Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Philipps-Universität Marburg an der Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. H. C. Friederich

Über die Vererbbarkeit funktioneller Eigenschaften der Haut

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität

vorgelegt von
Walter Kramer
aus Burgstetten

Marburg/Lahn 1979

Fotodruck Symon und Wagner OHG · 3550 Marburg · Biegenstraße 5

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546027_0073

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Philipps-Universität Marburg an der Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. H. C. Friederich

Über die Vererbbarkeit funktioneller Eigenschaften der Haut

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität

vorgelegt von
Walter Kramer
aus Burgstetten

Marburg/Lahn 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Als Dissertation angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
am Tag der mündlichen Prüfung: 14.9.1979

Dekan: Prof.Dr.med.F.Neurath
Referent: Prof.Dr.med.H.C.Friederich
Correferent: Prof.Dr.med.dent.H.Bernhardt

In Dankbarkeit

meinen Eltern und meiner Frau

gewidmet

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	5
II.	Material und Methodik	8
	1. Untersuchte Kollektive	8
	A. Zwillingsmethode	9
	B. Zwillingsdiagnostik	10
	2. Untersuchungsmethoden	13
	A. Vorbemerkungen	14
	B. Extraktion und Analysen der Hautoberflächenlipide	15
	a. Extraktion der Hautoberflächenlipide	15
	b. Gravimetrische Bestimmung der Hautoberflächenlipide	16
	c. Dünnschichtchromatographische Analyse der Hautoberflächenlipide	19
	C. Extraktion und Analysen der sogenannten Wasserlöslichen	28
	a. Extraktion der sogenannten Wasserlöslichen	30
	b. Korrektur- und Umrechnungsfaktoren	30
	c. Analyse mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode	33
	d. Analyse mit der Ferricyanid-Methode	36
	e. Analyse mit der Ninhydrin-Methode	39
	D. Alkalineutralisationskapazität der Haut	44
	E. Bestimmung der Alkaliresistenz der Haut	46
	F. Bestimmung der Benetzbarkeit mit wäßrigen Lösungen (Spreitung)	47
	G. Statistische Auswertungsmethoden	49
III.	Ergebnisse	50
	A. Einzelergebnisse	50
	B. Auswertung der Einzelergebnisse	71
IV.	Diskussion	79
V.	Zusammenfassung	81
VI.	Literaturverzeichnis	82

Einleitung

Bis heute findet sich noch kein Hinweis in der Literatur auf die Bedeutung, die Erbfaktoren für die funktionellen Eigenschaften der Haut haben. Theoretisch ist es zwar sehr wahrscheinlich, daß funktionelle Eigenschaften der Haut genetisch reguliert werden, bei den Eigenschaften der Hautoberfläche ist es jedoch fragwürdig, ob dieser Einfluß so groß ist, daß er für die Meßwerte von erheblicher Bedeutung ist.

Die einzige Möglichkeit zur Untersuchung dieser Frage stellen Zwillinge dar. SIEMENS (54) und VON VERSCHUER (67) haben bereits, ebenso wie später NISHIDA (41) und NIERMANN (40) in grundlegenden Untersuchungen an Zwillingen auf die Aussagekraft der Zwillingsmethode hingewiesen.

Meßbare Größen einer so komplexen funktionellen Einheit wie der Haut sind als Parameter, d.h. als bedingte, sowohl veränderliche als auch konstante Größen zu betrachten. Deshalb ist bei der Suche nach Veränderungen im Stoffwechsel der Haut sowohl der biochemisch als auch der physiologisch erfaßbare Bereich zu beachten. Hierfür können sowohl der Fett-, Kohlehydrat- und der Eiweißstoffwechsel als auch Veränderungen der Wasserstoffionen-Konzentration, bzw. des pH-Wertes, der Hautfeuchtigkeit und der Benetzbarkeit der Hautoberfläche bezüglich wäßriger Lösungen analysiert werden. Dabei ist zu beachten, daß die verschiedenen Substanzen des Hautstoffwechsels zum einen aus dem Stoffwechsel der Epidermisschichten oder des Coriums stammen, zum anderen aus dem Stoffwechsel der Hautanhanggebilde wie Talg- und Schweißdrüsen, zum dritten aber auch durch Diffusion aus den Blut- und Lymphgefäßen, bzw. aus den lymphgefüllten Interzellularspalten des Stratum spinosum und der übrigen Papillenbereiche. Die Hautoberflächenlipide sind ein Gemisch aus Lipiden der Epidemis und der im Corium liegenden Talgdrüsen (12,25,26). Freie Cholesterine werden nahezu ausschließlich von den epidermalen Lipiden gestellt. Triglyceride und freie Fettsäuren entstammen sowohl dem Stoffwechsel der Talgdrüsen als auch dem der Epidermis, Squalene und die Wachsester sind überwiegend auf den Stoffwechsel der Talgdrüsen zurückzuführen. Bei den Paraffinen ist es allerdings

fraglich, ob sie überhaupt Produkte des Stoffwechsels sind (15, 31).

Glyzerin ist ein Abbauprodukt des Festtstoffwechsels, das im wäßrigen Eluat der Hautoberfläche vorkommt. Es zählt nicht zu den kohlenwasserstofflöslichen Lipiden.

Im Gegensatz zum Fettstoffwechsel kann man unmittelbare Rückschlüsse auf biochemische Prozesse in der Epidermis aus den End- und Zwischenprodukten des Kohlehydrat-Stoffwechsels ziehen, obwohl die Sekrete der im Corium liegenden ekkrinen Schweißdrüsen eine Rolle spielen (6,36).

Eine weitere Hauptgruppe des biochemisch erfaßbaren Bereiches sind die Produkte des Eiweiß- bzw. Aminosäuremetabolismus. Wie neuere Untersuchungen gezeigt haben (60), ist für die Aufrechterhaltung des normalen pH-Milieus eher Kohlensäure verantwortlich. Aminosäuren und die Milchsäure spielen nur im stark alkalischen Hautoberflächenmilieu, wie z.B. bei der Alkaliresistenz- und der Alkalineutralisationsbestimmung eine wesentliche Rolle. Die Alkalineutralisationszeitbestimmung erlaubt Rückschlüsse auf die Quellungszustände des Stratum corneum. Die Alkaliresistenzbestimmung dient zur Untersuchung der aktiven Reaktion der lebenden Epidermis und der unteren Schichten des Stratum corneum (13). Diese Reaktion ist für die Beurteilung der Haut besonders wichtig, da durch eine verminderte Barrierefunktion des Stratum corneum die Sensibilisierung der Haut stark begünstigt wird.

Eine weitere Funktionsprüfung ist die Messung der Benetzbarkeit (Spreitung) der Haut. Sie korreliert mit dem Gehalt der Hautoberflächenlipide an freien Fettsäuren (17).

Mit den vorliegenden Untersuchungen wurde der Versuch unternommen nachzuweisen, inwieweit funktionelle Eigenschaften der Haut genetisch regulierbar sind. Zu diesem Zweck wurden 14 eineiige und 25 zweieiige Zwillingspaare untersucht. Folgende Bestimmungen wurden vorgenommen:
Fett-, Aminosäure- und Zuckerstoffwechsel sowie Alkaliresistenz-Alkalineutralisationsprobe und die Benetzbarkeitsuntersuchung der Haut.

Die Eiigkeitsdiagnose wurde nach folgenden Prinzipien der Zwillingsdiagnostik vorgenommen:
polysymptomatische Ähnlichkeitsdiagnose und serologische Blutgruppen- und Blutfaktorenbestimmung.

Diese Untersuchungen wurden im Humangenetischen Institut der Universität Marburg vorgenommen. Dem Leiter dieses Instituts, Herrn Professor Wendt, und seinen Mitarbeitern sind wir zu großem Dank verpflichtet.

II. Material und Methodik

1. Untersuchte Kollektive

Eineiige Zwillinge

Dieses Kollektiv bestand aus 15 "Paaren" zwillingsdiagnostisch einwandfrei erwiesener eineiiger Zwillinge, also aus 30 Versuchspersonen. Die geschlechtliche Aufteilung Mädchen zu Jungen verhielt sich wie 8:7. Die Mädchen waren zwischen 6 und 12 1/2 Jahren alt, wobei die Verteilung in diesem Altersbereich praktisch gleichmäßig war. Ihr Durchschnittsalter lag bei 9 Jahren. Die Jungen dagegen waren zwischen 6 und 14 Jahren alt, und ihr Durchschnittsalter lag bei 11 Jahren.

Zweieiige Zwillinge

Dieses Kollektiv bestand aus 25 "Paaren" eindeutig zweieiiger, aber gleichgeschlechtlicher Zwillinge, also aus 50 Versuchspersonen. Die Verschiebung der Geschlechtsverteilung zugunsten der Mädchen im Verhältnis 18:7 ist nicht allein darauf zurückzuführen, daß die Mädchen allgemein leichter für die Untersuchung gewonnen werden konnten, sondern liegt vielmehr daran, daß versucht wurde, eine möglichst auslesefreie Serie zu erhalten, und deshalb alle erreichbaren Zwillinge untersucht wurden. Das Alter der Mädchen lag ziemlich gleichmäßig verteilt zwischen 6 und 14 Jahren, im Durchschnitt bei 9 Jahren. Die Jungen waren zwischen 6 und 13 Jahre alt, der Durchschnitt lag bei 8 1/2 Jahren.

Sämtliche Versuchspersonen beider Kollektive waren völlig gesund, soweit dies anamnestisch und durch Inspektion festgestellt werden konnte. Es wurde besonders darauf geachtet, daß sie keinerlei Hautbefunde zeigten. Keine der Versuchspersonen befand sich zur Zeit der Untersuchung in regelmäßiger ärztlicher Behandlung.

Alle Versuchspersonen hatten mindestens 3 Tage vor der Untersuchung jede Reinigung der Heut im Bereich der Versuchsstellen zu unterlassen. Kosmetische und dermatologische Externa hatten alle Versuchspersonen seit längerer Zeit nicht verwendet.

Alle Untersuchungen wurden so vorgenommen, daß klimatische und

jahreszeitlich bedingte Einflüsse als Ursachen von möglichen Unterschieden weitestgehend ausscheiden.

A. Zwillingsmethode

Hierbei muß zunächst zwischen der sogenannten Zwillingskasuistik, das heißt die Untersuchung einzelner erkrankter Zwillingspaare, und der Untersuchung von Zwillingsserien unterschieden werden. Generell kann eine Aussage nur bei gleichgeschlechtlichen zweieiigen und eineiigen Zwillingen gemacht werden, während Pärchenzwillinge von geringem Interesse sind.

Für den Aussagewert einer Zwillingsserie, bei der Einzelbeobachtungen zu einer sogenannten Sammelkasuistik zusammengefaßt wurden, ist die Methode der Materialerfassung von entscheidender Bedeutung:

1) Werden Beobachtungen von Zwillingen mit einer bestimmten Krankheit zusammengefaßt, hat die Sammelkasuistik nur geringen Aussagewert, da das Material ja nach Zwillingen mit der zu untersuchenden Krankheit ausgesucht worden ist.

2) Bei der begrenzt repräsentativen Serie sind die Voraussetzungen etwas günstiger: Hierbei werden aus dem Patientengut z.B. einer Klinik über Geburtsregister usw. Nachforschungen über Zwillingsgeburten der Patienten angestellt und versucht, den zweiten, also gesunden Zwilling ebenfalls zu untersuchen. Obwohl gerade diese Methode äußerst mühsam ist, erhält man durch sie noch keine vollständig auslesefreie Serie.

3) Bei der auslesefreien Serie haben Kriterien, nach denen die Zwillinge ausgesucht werden, keine direkten oder indirekten Beziehungen zu der zu untersuchenden Krankheit. Eine relativ einfache und beliebte Methode zur Erstellung einer solchen auslesefreien Serie ist die Erfassung der Zwillinge über die Schulen, da man dadurch eine sehr große Erfassung der Zwillinge eines Jahrgangs einer bestimmten Region erreicht. Der Wert der Aussage einer so erstellten Serie ist desto höher einzuschätzen, je größer die Bereitwilligkeit der erfaßten Zwillinge an der Mitarbeit ist.

Bei Untersuchungen über Mißbildungen oder Schwachsinn wäre al-

lerdings diese Methode der Zwillingssuche nicht für eine auslesefreie Serie geeignet.

Allgemein steigt der Aussagewert einer Zwillingsserie in der hier dargelegten Reihenfolge: "Sammelkasuistik - Begrenzt repräsentative Serie - Auslesefreie Serie".

Bei der hier untersuchten auslesefreien Serie wurde die Gruppe eineiiger Zwillinge mit der Gruppe zweieiiger Zwillinge verglichen in der Häufigkeit der Konkordanz für bestimmte Faktoren. Die Frage, ob die Konkordanz bei eineiigen Zwillingen von der bei zweieiigen Zwillingen abweicht, wurde statistisch bearbeitet.

Um eine möglichst auslesefreie Serie zu gewährleisten, wurden nur Zwillinge untersucht, die möglichst denselben Umwelteinflüssen ausgesetzt waren, z.B. gemeinsames Elternhaus, gemeinsame Ernährung, gemeinsamen Schulbesuch usw. Verglichen wurden bei ihnen die Unterschiede der gemessenen Faktoren der beiden Zwillinge.

B. Zwillingsdiagnostik

In der Literatur wird unter "Zwillingsdiagnostik" zum einen die mittels der Zwillingsmethode gestellte Diagnose eines bestimmten Markmals bezüglich seiner Vererbbarkeit verstanden, also die Klärung der Frage, ob und in welchem Ausmaß ein bestimmtes Merkmal von Erbanlagen geprägt ist. Zum andern versteht man unter "Zwillingsdiagnose" die Diagnose der Eiigkeit, d.h. die Klärung der Frage, ob ein Zwillingspaar - natürlich kommen hierfür nur gleichgeschlechtliche Paare in Betracht - eineiig, also erbgleich, oder zweieiig, also ebenso erbverschieden bzw. erbgleich ist wie zwei Geschwister sonst.

Es gibt verschiedene Kriterien, nach denen festgestellt werden kann, ob es sich um eineiige oder um zweieiige Zwillinge handelt:

1) Die Eihäute und die Placenta können zur Eiigkeitsdiagnose nicht herangezogen werden, da weder Amnion noch Placenta eine definitive Aussage erlauben. Auch das Chorion gestattet keine genaue Bestimmung, da auch eineiige Zwillinge in getrennten Chorien herangewachsen sein können. Zwar sind monochorische

Zwillinge immer eineiig, doch kann dieser Satz nicht umgekehrt verwendet werden, da, wie oben erwähnt, bichorische Zwillinge sowohl eineiig wie auch zweieiig sein können. Außerdem ist diese Methode ungeeignet, da es äußerst schwierig wenn nicht fast unmöglich ist, mit Sicherheit festzustellen, ob Chorion und Amnion einfach oder doppelt ausgebildet sind.

2) Die polysymptomatische Ähnlichkeitsdiagnose gilt heute zusammen mit der unter 3) aufgeführten Untersuchung der Blutfaktoren als d i e Methode zur Feststellung der Eiigkeit. Technisch beruht sie auf der vergleichenden Untersuchung von polygen bedingten Einzelmerkmalen der Zwillinge, bei der für eine Vielzahl einzelner Merkmale jeweils die Ähnlichkeit bzw. die Unähnlichkeit festgestellt wird.

Für die praktische Untersuchung sollten möglichst viele Merkmale auf ihre Übereinstimmung überprüft werden. Die Literatur gibt für die meisten dieser verschiedenen, polygen bedingten Merkmale den Grad der Verschiedenheit bei eineiigen Zwillingen an und, von welchem Ausmaß der Verschiedenheit an ein Hinweis auf Zweieiigkeit gegeben ist. In untenstehender Tabelle sind einige der für die Eiigkeitsdiagnose wichtigen Merkmale zusammengestellt, allerdings erstrebt die Aufstellung keine Vollständigkeit und betrifft auch nicht alle Einzelheiten.

Tabelle 1. Polygene Merkmale für die Eiigkeitsdiagnose

Hirnschädel:	Maße und Indices, Scheitelform, Hinterhaupt.
Gesicht:	Maße und Indices, Stirn, Gesichtsumriß und -profil.
Nase:	Größe, Profil, Flügel, Nasenboden.
Mund:	Form der Haut- und Schleimhautlippen, Mundspalte.
Kinn:	Profil und Umriß, Kinn-Lippenfurche, Kinngrübchen.
Ohren:	Gesamtform, Leiste, Furche, Wulst, Läppchen, Höcker, Zwischenhöckereinschnitt, Rückseite.
Augenregion:	Weichteile, besonders Lider (Deckfalte!).
Behaarung:	Kopfhaar: Ansatzlinien, Wirbelbildung, Wellung. Stirn- und Nackenhaarströme. Augenbrauen. Wimpern. Körperbehaarung.

Pigmentierung: Iris, Kopfhaar, Brauen, Haut.
Gesamtkörper: Maße und Indices. Konstitution, Fettverteilung. Form der Hände, Finger, Fingernägel, Füße und Zehen.

Da hier jugendliche Zwillinge untersucht wurden, sei darauf hingewiesen, daß eineiige Zwillinge bei der Geburt und in der Pubertät relativ am unähnlichsten sind.

Bei dieser Methode wird davon ausgegangen, daß man auf Zweieiigkeit zu schließen hat, wenn mehrere dieser polygenen Merkmale das durchschnittliche Maß an Ähnlichkeit zwischen eineiigen Zwillingen unterschritten haben. Da jedoch dasjenige Maß an Ähnlichkeit, das mit der Diagnose der Eineiigkeit gerade noch vereinbar ist, vorher irgendwann anhand von Zwillingsuntersuchungen ermittelt worden ist, könnten diese Untersuchungen in der Tat leicht zu Fehlschlüssen führen, wenn wir uns auf e i n derartiges Merkmal oder nur auf wenige Merkmale beschränken würden. Die Fehlermöglichkeit sinkt in dem Maße, je mehr verschiedene Merkmale man heranzieht.

3) Neben der eben besprochenen Ähnlichkeitsdiagnose mit polygenen Merkmalen sind für die Feststellung der Eiigkeit diejenigen normalen menschlichen Merkmale von besonderer Bedeutung, die monomer vererbt werden und eine vollständige Penetranz zeigen.

Dabei handelt es sich um die Blutgruppen, die Blutfaktoren, die Ausscheider-Eigenschaft und um die erblichen Serumfaktoren.

Der Wert dieser monomeren Merkmale liegt in erster Linie in der Feststellung, daß ein auch nur in einem dieser Faktoren verschiedenes Zwillingspaar nicht eineiig sein kann - auch dann nicht, wenn sonst die größte Ähnlichkeit besteht.

Durch die Untersuchung aller heute bekannten einfach vererbten Merkmale können etwa 98% aller zweieiigen Zwillinge an der Diskordanz in wenigstens einem dieser Erbfaktoren erkannt werden. In der Praxiy kann man aber meist nur einen Teil dieser Merkmale untersuchen - wodurch der Prozentsatz der auf diese Weise erkennbaren zweieiigen Zwillinge erheblich niedriger liegt.

Zur Eiigkeitsbestimmung der hier untersuchten Zwillinge wurden folgende Faktoren herangezogen:

ABO-System, Rh-System, MNS_s-System, Kell-System, Duffy-System, Haptoglobin-System, Gruppenspezifische Komponente Gc, saure Erythrozytenphosphatase acP, Phosphorglucomutase PCM, Adenosindesaminase ADA, Adenylat-(Myo)-Kinase.

Die Diagnose der Eiigkeit sollte niemals nur auf die Konkordanz in den Erbmerkmalen des Blutes gründen, sondern immer durch die sorgfältige Untersuchung der polygenen Merkmale ergänzt werden.

2. Untersuchungsmethoden

In der Zeit von April 1975 bis Juli 1975 wurden bei allen Versuchspersonen die nachstehend aufgeführten Untersuchungen vorgenommen, wobei alle Untersuchungen bzw. Extraktionen - soweit sie an den Versuchspersonen selbst erfolgten - nach mindestens 15 Minuten Adaptation unter standardisierten Bedingungen in der Klimakammer bei 25°C und 45% relativer Luftfeuchtigkeit vorgenommen wurden.

1. Direkte Extraktion der Hautoberflächen-Lipide mit Petroläther, deren gravimetrische Bestimmung und dünnschichtchromatographische Analyse.
2. Direkte Extraktion der sogenannten Wasserlöslichen mit Aqua bidest und folgende Analysen des so gewonnenen Eluatmaterials:
   a. Phenol-Schwefelsäure-Methode nach PARK und JOHNSON
   b. Ferricyanid-(Reduktions-)Methode DUBOIS et al.
   c. Ninhydrin-Methode nach MOORE und STEIN
3. Bestimmung der Alkalineutralisations-Kapazität nach BURCKHARDT
4. Bestimmung der Alkaliresistenz nach BURCKHARDT
5. Messung der Benetzbarkeit der Haut (Spreitung) nach der Methode von SCHNEIDER und SCHULEIT.

Die Extraktions- bzw. Untersuchungsstellen an den Versuchspersonen sind in Abb. 1 zusammengefaßt dargestellt. Sämtliche Meß- und Analysenergebnisse sind einschließlich der arithmetischen Mittelwerte M_a, der Standardabweichungen s und des Signifikanzniveaus α einander gegenübergestellt.

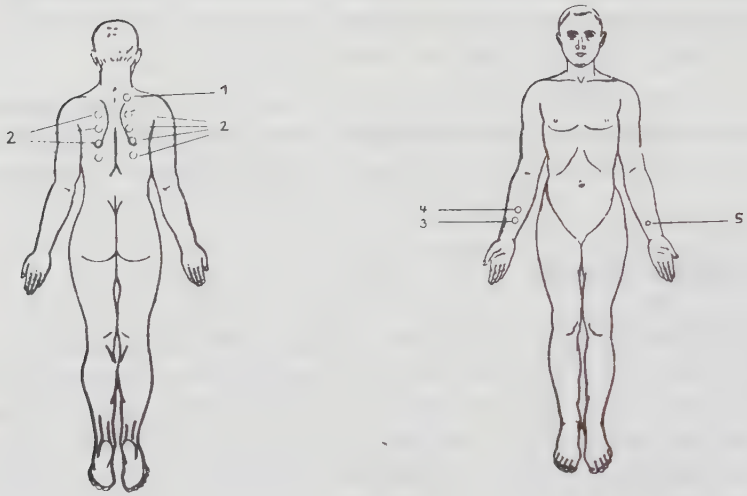


Abb. 1: Extraktions- bzw. Versuchsorte
1. Extraktion der Hautoberflächen-Lipide
2. Extraktion der sogenannten Wasserlöslichen
3. Alkalineutralisations-Kapazität der Haut
4. Alkali-Resistenz der Haut
5. Benetzbarkeit der Haut (Spreitung)

A. Vorbemerkung zu den analytischen Methoden

Grundsätzlich wurden alle Glasteile, die mit den Extrakten der Hautoberflächenlipide, den Eluaten der sogenannten Wasserlöslichen oder deren Lösungsmittel in Berührung kommen sollten, vor Gebrauch sorgfältig einer speziellen Reinigung unterzogen:
1. 24 Stunden in einem Chromschwefelsäurebad,
2. 2 Stunden Spülung unter fließendem Wasser
3. mehrmaliges Nachspülen mit Aqua bidest
4. 1 Stunde Trocknen im Trockenschrank bei 120°C

Die gereinigten Glasteile wurden zur Vermeidung späterer Verunreinigungen nur mit Pinzetten oder Kornzangen berührt und in geschlossenen Glasgefäßen aufbewahrt.

A. Extraktion und Analyse der Hautoberflächenlipide

a. Extraktion der Hautoberflächenlipide

Die Hautoberflächenlipide wurden mittels Petroläther extrahiert, und ihre gravimetrische Bestimmung erfolgte nach der Methode von CARRIÉ (6) in der Modifikation nach SCHIRREN und HONSIG (48). In der Marburger Universitäts-Hautklinik wird für die Extraktion ein zylindrischer Glasrohrabschnitt von 45 mm Innendurchmesser und 50 mm Höhe verwendet. Damit wird jeweils eine Hautfläche von ca. 16 cm^2 erfaßt. Der Glaszylinder wurde in Höhe von Th 3 etwas seitlich der Wirbelsäule unter umgehung der sogen. Schweißrinne direkt auf die Rückenhaut gesetzt und durch leichten Druck mit der Hand an der Außenseite des Zylinders festgehalten bzw. abgedichtet (Abb. 2). Sodann wurde mit einer Glaspipette und auf-

Abb. 2
Extraktion der Hautoberflächenlipide mit Petroleumbenzin p.A.

gesetztem Peleusball 10,0 ml Petroleumbenzin p.A. (Siedebereich 40....60°C)+) in den Extraktionszylinder gefüllt und genau 120 Sekunden unter leichten Dreh- und Schüttelbewegungen auf der verschieblichen Haut bewegt. Sofort anschließend wurde

+) Petroleumbenzin p.A. Fa. E.Merck, Darmstadt, Art. Nr.1775.

das Lösungsmittel mit den darin gelösten Hautoberflächenlipiden mit der Pipette abgesaugt (Abb. 3) und in ein bereitstehendes, speziell gereinigtes Reagenzglas gefiltert.

Abb. 3
Extraktion der Hautoberflächenlipide
Der Glaszylinder wird unter leichtem Druck auf die Haut aufgesetzt und mit einer 10 ml Pipette das Petroleumbenzin einlaufen lassen.

Das Lösungsmittel wurde dann im Exsikkator bei Unterdruck mit einer Wasserstrahlpumpe abgedampft und das Reagenzglas mit dem Lipidniederschlag bei -21°C in der Tiefkühltruhe bis zur weiteren Auswertung aufbewahrt.

b. Gravimetrische Bestimmung der Hautoberflächenlipide

Zur quantitativen Bestimmung wurde der Lipid-Niederschlag nach 10minütigen Auftauen und Abtrocknen der Gläser bei Raumtemperatur wie folgt aufgelöst und in ein numeriertes Wägeschälchen mit auf 10^{-6} g genau bekanntem Leergewicht übertragen:

a. Auflösen des Lipid-Niederschlags durch 1,0 ml Petroleumbenzin p.A.+), das mittels Pasteur-Pipette am Reagenzglas-Innenrand tropfenweise herabfließen soll, wobei das Reagenzglas schräg gehalten und langsam gedreht wird.

+) Petroleumbenzin p.A. Fa. E.Merck, Darmstadt, Art.Nr. 1775.

b. Auflösen und Abwaschen des Niederschlags durch drehende Schüttelbewegung des Reagenzglases 30 Sekunden lang, wobei darauf geachtet wurde, daß von dem Lösungsmittel der gesamte Niederschlagsbereich der ehemals 10 ml Extraktionslösung erfaßt wird.

c. Abpipettieren in das speziell gereinigte, numerierte und danach auf 10^{-6} g ausgewogene Wägeschälchen mit einer weiteren Pasteurpipette.

d. Wiederholen der Vorgänge a. und b. mit jeweils 0,5 ml Petroleumbenzin p.A. und Übertragen des gelösten Restniederschlages mit der unter c. benützten Pasteurpipette.

e. Wiederholen des Vorgangs d. mit 0,5 ml Petroleumbenzin p.A. und Wegwerfen der Pasteurpipette aus Vorgang c., d. und e.

Im Anschluß an die Übertragung wurde aus der Lipidlösung das Lösungsmittel im Exsikkator bei Unterdruck mit einer Wasserstrahlpumpe abgedampft. Die Hautoberflächenlipide blieben danach als dünner Belag in den Wägeschälchen zurück. Um auch nicht sichtbare Reste von Feuchtigkeit und Lösungsmittel zu verdunsten, wurden die Wägeschälchen offen bei 50°C in einen Trockenschrank gestellt, wo sie für mindestens eine Stunde verblieben. Danach kamen die Lipidproben in einen mit hoch wasserfreien Kupfer-II-Sulfat-Kristallen (dunkelblau!)+) beschickten Exsikkator. In diesem geschlossenen Exsikkator verblieben die Proben 24 Stunden zur Wärmeakklimatisation in der klimatisierten Wiegekammer.

Zum genauen Abwägen für die gravimetrische Bestimmung der Hautoberflächen-Lipide wurden die Wägeschälchen mit einer Pinzette auf eine Spezialvorrichtung in der Mikrowaage++) gelegt. Es wurde peinlich darauf geachtet, daß die Wägegut-Kammer der Waage immer sofort wieder geschlossen wurde, daß immer eine ausreichend große Schale mit hoch wasserfreien Kupfer-II-Sulfat-Kristallen (dunkelblau)+) in der Wägegutkammer der Waage stand und daß das Wägegut niemals in Berührung mit fettbehafteter Haut der Hand kam.

Das Gewicht der extrahierten Hautoberflächen-Lipide ergab sich

---

+) 3 Tage bei 120°C im Trockenofen kristallwasser-dehydriert.

++) Type M 5 SA, Fa. E.Mettler, Zürich/Schweiz
Meßgenauigkeit: 10^{-6} Gramm

mit einer Genauigkeit von 10^{-6} Gramm aus der Differenz zwischen dem auf 10^{-6} Gramm genau gewogenen lipidhaltigen Wägeschälchen und seinem exakt genau bekannten Leergewicht.

Nach dem Wiegen wurden die Hautoberflächen-Lipide aus den Wägeschälchen in Kleinst-Reagenzgläser (Meinicke), wie zu Anfang dieses Kapitels beschrieben, überspült und in einen Spezialständer gestellt, der es erlaubte, die Röhrchen nach Abdampfen des Lösungsmittels im Exsikkator mit der Wasserstrahlpumpe luftdicht abzuschließen und bis zur qualitativen Bestimmung bei $-21^{\circ}C$ in einer Tiefkühltruhe aufbewahrt.

Abb. 4
Aufbewahrung der Wägeschälchen im Exsikkator

Die gebrauchten Schälchen wurden einer gründlichen Reinigung unterzogen, wie das auch mit allen anderen Glasgeräten geschah.

a) Chromschwefelsäure-Bad von mindestens 24 Stunden
b) Spülen unter fließendem Wasser von mindestens 2 Stunden
c) Spülen mit destilliertem Wasser
d) Trocknen bei $120^{\circ}C$ 1 Stunde im Trockenschrank

Zur Vermeidung von Fettspuren wurden die Gläschen nur mit der Pinzette oder der Kornzange angefaßt. Um Verunreinigungen mit Staub zu vermeiden, wurden sie ständig im verschlossenen Exsikkator aufbewahrt (Abb. 4).

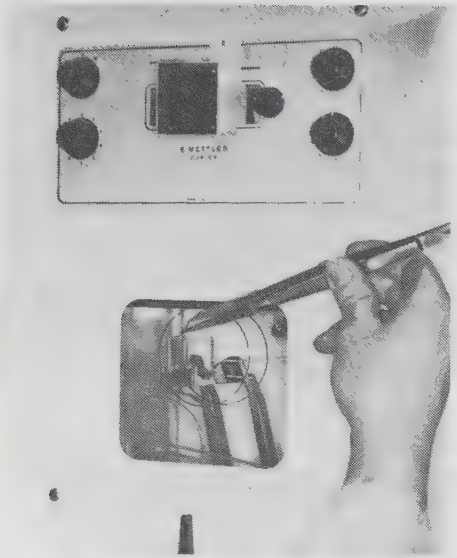


Abb. 5
Einbringen der Wägeschächen mit den Hautoberflächen-Lipiden in die Mikrowaage.
Meßgenauigkeit: 10^{-6} g

Nach jedem Waschen mußten die Leergewichte der Wägeschlächen neu bestimmt werden, da sich Substanzverluste durch Absplittern kleiner Glasstückchen am Schälchenrand bei den zu messenden kleinen Werten stark bemerkbar machen.

c. Dünnschichtchromatographische Analyse der Hautoberflächen-Lipide und deren densitometrische Auswertung

Sämtliche Proben wurden nach der Objektträger-Methode von VAN GENT (10) in der von GLOOR et al. (16) angegebenen Modifikation und unter Verwendung der von GRAUMANN (24) angegebenen Korrekturfaktoren untersucht.

Vorbereiten des Kieselgels

Als Adsorptionsmittel wurde ein Kieselgel+) verwendet, das wie folgt aufbereitet wurde:
a) ein Vol-Teil Kieselgel wurde mit zwei Vol-Teilen Aqua bidest durchgerührt und anschließend bei mindestens 3000 U/min in Glas-

+) Kieselgel H nach STAHL, Typ 60 (Merck 7736)

zylindern zentrifugiert.
b) Nach Abschütten des Wassers wurde das Kieselgel zweimal mit Methanol p.A. aufgerührt und ebenfalls jeweils bei 3000 U/min zentrifugiert.
c) Nach Abschütten des Methanols wurde das Kieselgel mit einem Gemisch von Methanol p.A. und Chloroform p.A. im Verhältnis 1:1 durchgerührt und bei 3000 U/min zentrifugiert.
d) Nach Abschütten der Gemischflüssigkeit wurde das Kieselgel dreimal mit Chloroform p.A. durchgerührt und jeweils bei 3000 U/min zentrifugiert.
e) Das so gewaschene Kieselgel wurde nach Abschütten des letzten Chloroforms so in Chloroform p.A. suspendiert, daß etwa 30 Gramm trockenes Kieselgel in 100 ml Chloroform enthalten waren.

Vorbereitung und Beschichtung der Platten

Als Platten für die dünnschichtchromatographische Analyse wurden Objektträger der Größe 76x25 mm benutzt, in die fortlaufende Nummern eingraviert waren. Sie wurden mit wasserfestem Korundpapier der Körnung 400-500 naß gleichmäßig aufgerauht und anschließend der oben beschriebenen Spezialreinigung für Glasteile unterzogen.

Das aufbereitete Kieselgel, das in Chloroform suspendiert wurde, wurde vor dem Beschichten der Objektträger mindestens 12 Stunden mit einem Magnetrührer und einem silikonummantelten Rührkörper blasenfrei homogenisiert. Als Gefäß diente dazu ein zylindrisches Glasgefäß mit Schliffdeckel.

Zum Beschichten wurden jeweils zwei eng aneinanderliegende Objektträger mit einer (gereinigten!) Pinzette für zwei Sekunden senkrecht in die homogenisierte Kieselgelsuspension eingetaucht und senkrecht ohne Unterbrechung schnell herausgezogen. Die noch feuchten, außen beschichteten Objektträger wurden für eine Sekunde senkrecht auf Fließpapier gestellt, um unten hängende Kieselgelsuspension abzusaugen, danach getrennt und an der Luft getrocknet (Abb. 6).

Nach etwa einer Minute Trockenzeit wurden die Ränder der Objektträger mit einem über den Fingernagel gelegten neuen Papiertaschentuch ca. 1-2 mm weit abgestreift, um Randeffekte zu vermeiden (Veränderung der R_f-Werte nach oben und unten).

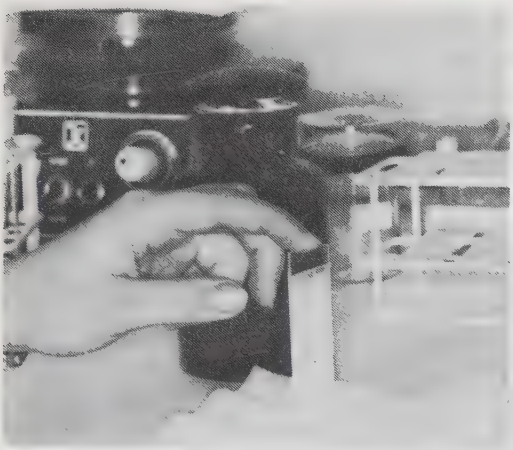


Abb. 6
Abtropfen eines beschichteten Objektträgers auf Fließpapier nach dem Eintauchen in die Kieselgelsuspension

Nach Säuberung der Rückseite wurden die beschichteten Objektträger durch Auflegen auf eine ebenfalls gesäuberte Heizplatte für 10 Minuten bei 100°C aktiviert.

Nach dem Abkühlen waren die Dünnschichtplatten zum Auftragen der Lipide bereit und konnten so einige Tage lichtgeschützt ((Vergilbungsgefahr!) aufbewahrt werden.

Auftragen der zu trennenden Lipidgemischlösung

Nach dem Auftauen und Trocknen der Kleinstreagenzgläser im Spezialgestell wurde der Lipidniederschlag jedes Gläschens aufgelöst und auf eine Standardverdünnung von etwa 1,0 Gewichtsprozent gebracht. Dies geschah, indem man jeweils die 100fache Menge des bekannten Gesamtgewichts der Lipide in ml Chloroform p.a. in die Kleinstreagenzröhrchen mit einer feingraduierten Enzympipette auf die schräggehaltene Innenwand laufen ließ und das Röhrchen dabei drehte. Das Röhrchen wurde nach dem Einlaufen des Chloroforms so lange gedreht, bis sich der an den Innenseiten des Gläschens befindliche Niederschlag vollständig gelöst hatte.

Mit Haarkapillaren, die man über der Flamme eines Bunsenbrenners durch zweimaliges Ausziehen einer Pasteurpipette herstellt, wurde nun das verdünnte Lipidgemisch etwa 5 mm vom unteren Rand der Dünnschichtplatte zweimal übereinander Punkt neben Punkt aufge-

tragen, wobei darauf zu achten war, daß die Kieselgelschicht nicht verletzt wird (Abb. 7). Die Bandbreite der aufgetragenen und breitlaufenden Lipidlösung sollte dabei etwa 1,5-2 mm nach jeder Seite nicht überschreiten, was man durch die Feinheit der auslaufenden Kapillarspitze regulieren konnte.

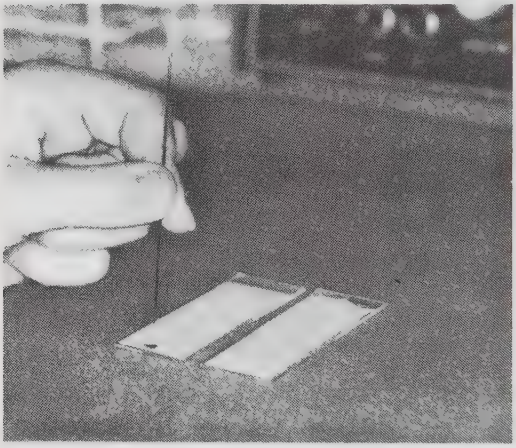


Abb. 7
Auftragen des Lipidgemischs mit einer Glaskapillare (zur besseren Darstellung ist das sonst farblose Lipidgemisch hier angefärbt.

Auftrennen des Lipidgemischs in Fraktionen

Das Auftrennen des Lipidgemischs in seine Einzelfraktionen geschah durch dreimaliges Entwickeln in verschiedenen Fließmitteln. Als Gefäße wurden Wägegläser von 50 mm Durchmesser und 90 mm Höhe verwendet, die mit einem Schliffdeckel NS 50 versehen waren.

Im ersten Fließmittel (Hexan p.a.) wurde das Lipidgemisch bis 5 mm unterhalb des oberen Randes der Kieselgel-Dünnschicht entwickelt. Nach Abtrocknen an der Luft wurde die Dünnschichtplatte in das zweite Fließmittel gestellt (Gemisch: Hexan/Diäthyläther/Eisessig jeweils p.a. im Verhältnis 7:3:0,1 Volumenteile) und bis 5 mm unterhalb der Dünnschichtmitte entwickelt. Anschließend mußte wegen des weniger flüchtigen Eisessiganteils dieses Fließmittels ein Trocknen von 15 sec. bei 100°C auf einer peinlich sauberen Haizplatte eingeschaltet werden. Nach Abkühlen

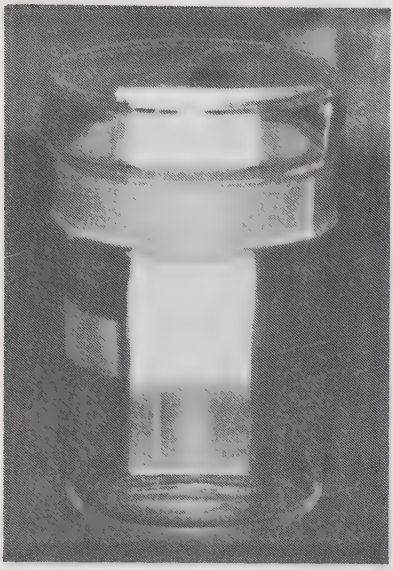


Abb. 8
Dünnschichtplatten im Entwicklergefäß, das 1-2 mm mit Fließmittel gefüllt ist. Die Dünnschichtplatten müssen möglichst senkrecht stehen.

der Dünnschichtplatte wurde im dritten Fließmittel (Benzol p.a.) bis 10 mm unterhalb des oberen Randes der Kieselgel-Dünnschicht entwickelt und anschließend an der Luft getrocknet (Abb. 8+9).

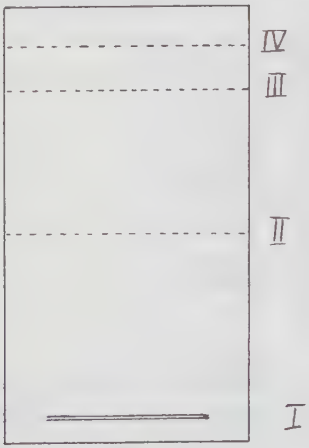


Abb. 9
I Lage der Startlinien auf einem Objektträger und Fließmittel-Obergrenzen (II-IV).

Während des Fließvorganges bis zur vorgesehenen Fließhöhe waren die Gefäße dicht mit dem Schliffdeckel verschlossen zu halten, da die obere Fließgrenze besonders empfindlich gegen Verdunstung des Fließmittels war und sich nach Rückfall der oberen Fließgrenze eine zweite, die Auswertung verhindernde Lipidbandengruppe über der ersten gebildet hätte.

Sichtbarmachung der Lipidbanden durch Veraschung

Für die densitometrische Auswertung mußten nun die Banden der einzelnen Lipidfraktionen optisch aktiv gemacht werden. Das geschah durch Umsetzung mit 40%iger Schwefelsäure und nachfolgender Veraschung.

Die entwickelten Dünnschichtplatten wurden im Abzug mit einem Zerstäuber*), der einen sehr feinen Nebel erzeugte, damit die Kieselgelschicht nicht verletzt wurde, gleichmäßig und vorsichtig aus ca. 1 m Entfernung mit der 40%igen Schwefelsäure besprüht und bei 50°C auf einer Heizplatte vorgetrocknet (Abb. 10).

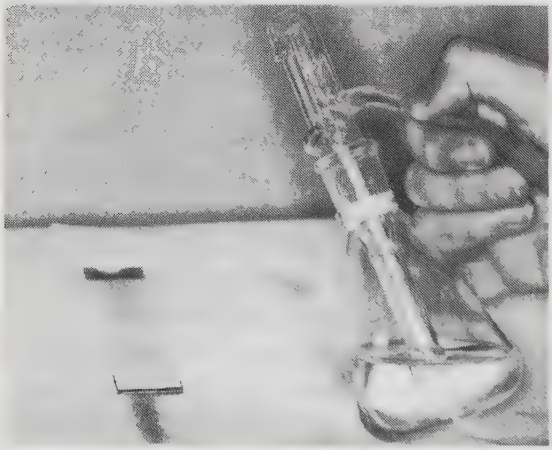


Abb. 10
Besprühen der Dünnschichtplatte mit 40%iger Schwefelsäure.

Durch stufenweises Hochschalten der regulierbaren und mit einem Thermostat versehenen Heizplatte in bestimmten zeitlichen Intervallen wurden die Lipidbanden langsam erhitzt und verascht, so daß sie als Banden auch sichtbar wurden:

*) Sprühgefäß der Fa. DESAGA, 69 Heidelberg.

	10 min	100°C	
	10 min	150°C	
	10 min	180°C	
	20 min	200°C	
bei Bedarf:	20 min	230°C	(Abb. 11, 12)

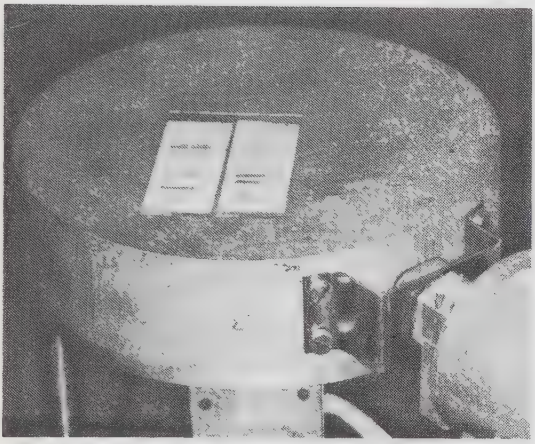


Abb. 11
Nach Erhitzen auf 200°C werden die einzelnen Lipidfraktionen sichtbar.

Abb. 12
Fertig entwickelte Dünnschichtplatte. Die dünnschichtchromatographische Auftrennung der Hautoberflächenlipide in die einzelnen Fraktionen wird dadurch sichtbar.

Densitometrische (relativ-quantitative) Auswertung

Die densitometrische Auswertung ist insofern nur eine relativ-quantitative, weil sie allein nur eine Aussage über die prozentualen Anteile der Lipidfraktionen am Gesamtlipidgemisch erlaubt. Erst im Zusammenhang mit der Gesamtmenge der aus einer Hautfläche extrahierten Lipide ist eine echte quantitative Bestimmung der Einzelfraktionen möglich.

Die Auswertung der nun sichtbaren Lipidbanden erfolgte mit einem Densitometer*), das nach dem Prinzip des Photometers arbeitet und die Schwärzung über die Länge der Dünnschichtplatte als Kurvenzug aufzeichnet (Abb. 13). Ein im Densitometer eingebauter, digital anzeigender Integrator bestimmte gleichzeitig die Flächenäquivalente der aufgezeichneten Densitometerkurve. Eine solche typische Densitometerkurve ist in Abb. 14 näher erläutert.

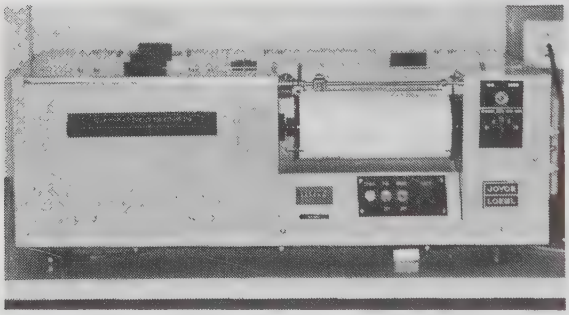


Abb. 13
Densitometer

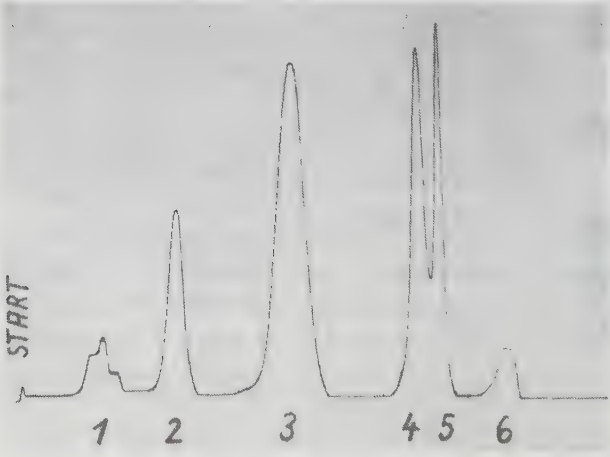


Abb. 14
Beispiel eines Densitometer-Kurvenzugs, Lage der Fraktions-'Peaks' und deren digitaler Flächenäquivalente.
1 Cholesterin (53)
2 freie Fettsäuren(78)
3 Triglyceride (108)
4 Wachsester (89)
5 Squalen (43)
6 Paraffine (14)

*) Densitometer, Typ CHROMOSCAN,

Auswertung der Densitometerkurven (Chromatogramme)

Das vom Densitometer als Kurvenausschlag (sog. 'peak') aufgezeichnete und vom Integrator vermessene und digital aufgezeigte Flächenäquivalent einer Lipidbande konnte unter bestimmten Voraussetzungen als Grenzwertsumme der Lipidkonzentrationen über die jeweilige Bandenbreite bzw. als Grenzwertsumme der Differentialprodukte aus Bandenbreite (Ordinate) und Schwärzungsintensität (Abszisse) aufgefaßt werden. Die Voraussetzung dafür war, daß die Schwärzungsintensität proportional zur jeweiligen Lipidkonzentration steigt.

GRAUMANN (24) beschreibt in seiner Dissertation S. 7-11, daß der Schwärzungsgrad, der beim Umsetzen mit 40%iger Schwefelsäure und nachfolgendem Veraschen von Lipiden auftritt, bei gleichen Konzentrationen und standardisierten Bedingungen eine abhängige Variable der unterschiedlichen Struktur der jeweiligen Lipidfraktion ist:
"Triglyceride mit z.B. kurzkettigen oder gesättigten Fettsäuren ergeben bei gleicher Menge eine geringere Schwärzung als solche mit hoch ungesättigten Fettsäuren. Zur Korrektur dieser Unterschiede wurden die Schwärzungsfaktoren für die in der zu analysierenden Probe vorher ermittelt. Cholesterin als einheitliche Verbindung erhielt den willkürlich festgelegten Schwärzungsfaktor 1."

Für die unterschiedliche Schwärzung der einzelnen Lipidfraktionen errechnete GRAUMANN folgende standardisierte Korrekturfaktoren:

Cholesterin	1,00 (willkürlich)
Freie Fettsäuren	1,11
Triglyceride	1,35
Wachsester (Walrat)	0,96
Squalene	0,97
Paraffin	1,08

Um ein der Konzentration proportionales Flächenäquivalent zu erhalten, wurde der vom Integrator ermittelte Fraktionswert mit dem zugehörenden Schwärzungsfaktor multipliziert. Die Summe der so erhaltenen bereinigten, den Konzentrationen der einzelnen Lipidfraktionen proportionalen Flächenäquivalente entsprach der Summe des gesamten extrahierten Lipidgemischs und wurde demgemäß gleich 100 % gesetzt.

Die prozentualen Anteile der Einzelfraktionen - soweit sie voneinander getrennt werden konnten - ergaben sich aus der Formel:

$$\sum F_n \cdot f_n = 100\ \% \qquad \text{mit:}$$

F_n = Flächenäquivalent einer Lipidfraktion n, vom Integrator digital angezeigt

f_n = Schwärzungsfaktor der Lipidfraktion n

nach der Dreisatzrechnung z.B. für Triglyceride:

$$\%\ TG = \frac{F_{TG} \cdot 1{,}35 \cdot 100\ \%}{\sum F_n \cdot f_n}$$

Der absolute Anteil einer Lipidfraktion, z.B. der Triglycide, beträgt dann in Milligramm:

$$mg\ TG = \frac{mg\ Gesamtlipide \cdot \%\ TG}{100\%}$$

Die Hautoberflächenlipide lassen sich mit dieser Methode aus verschiedenen Gründen (begrenzte Unterschiede in den Fließeigenschaften, Überlagerung von kleinen Lipidfraktionen durch unvermeidbare Verunreinigungen in Lösungsmitteln, Kieselgel, Kieselgel-Waschflüssigkeiten, Verunreinigungen durch unsaubere Haut u.a.) nicht völlig in Einzelstoffe auftrennen, sondern nur in Fraktionen etwa gleicher Fließeigenschaften. So kommen in der Cholesterinfraktion unvermeidlich Diglyceride und in der Wachsesterfraktion Cholesterinester vor. Auch die Auftrennung von Squalen und Wachsestern gelingt nicht immer vollständig exakt, so daß es zu Doppelpeaks in den Densitogrammen kommt. In der sog. Paraffinfraktion könnten ebenfalls noch aufschlußreiche Einzelsubstanzen identifiziert werden, wenn eine wesentlich stärker differenzierende Trennmethode benutzt würde.

Extraktion und Analyse der Wasserlöslichen Substanzen der Hautoberfläche

Die Extraktion der wasserlöslichen Substanzen der Hautoberfläche erfolgte, nachdem sich die Versuchspersonen mit unbedecktem Rücken für mindestens 30 Minuten an die standardisierten Bedingungen der Klimakammer adaptieren konnten.
Zur Extraktion wurden zylindrische Glasrohrabschnitte von 55 mm Innendurchmesser und 60 mm Höhe verwendet.

C. Extraktion der sogenannten Wasserlöslichen

Die Extraktion der sog. Wasserlöslichen erfolgte in Höhe der Rückenwirbel Th 3, Th 6, Th 9 und Th 12 jeweils seitlich der Schweißrinne rechts und linke. Erfaßt wurde bei jeder Einzelextraktion ein Hautgebiet von 23,76 cm^2. Die Gewinnung des Eluats geschah nach einem Anreicherungsverfahren: nachdem der Zylinder vollständig abdichtend aufgesetzt war, wurden mit einer Glaspipette und Peleusball 10,0 ml Aqua bidest in den Extraktionszylinder gegeben und - soweit, wie die Haut verschieblich war - durch kreisförmiges Schwenken in Bewegung gehalten. Nach 120 Sekunden wurde das Eluat von der Extraktionsstelle mit derselben Pipette abgesaugt, der Zylinder am nächsten Extraktionsort dieser Rückenseite plaziert, das Eluat wieder in den Zylinder gegeben und wiederum für 120 Sekunden dort bewegt. Nach allen vier Extraktionen auf der einen Rückenseite wurde das so mit den wasserlöslichen Substanzen angereicherte Eluat in ein bereitstehendes sauberes Reagenzglas gefiltert. Auf der anderen Rückenseite wurde ebenfalls mit 10,0 ml Aqua bidest nach dieser Methode verfahren und das angereicherte Eluat zu dem Eluat der ersten Rückenseite gegeben.

Da bei jeder Teilextraktion eine geringe Menge Eluat auf der Haut verblieb, erhielt man bei diesem Verfahren insgesamt etwa 19 ml Eluat von jeder Versuchsperson, mit dem jeweils die auf Seite 4 unter 2C c-e aufgeführten Analysen vorgenommen wurden.

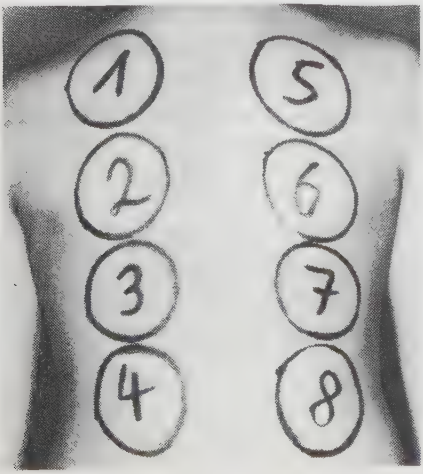


Abb. 15
Extraktionsstellen der wasserlöslichen Substanzen auf der Haut.

Korrektur- und Umrechnungsfaktoren

Bei den meisten der nachfolgend beschriebenen Analysen wird die gesuchte Menge Substanz aus einer photometrisch gemessenen Extinktion berechnet, die wiederum einer bestimmten analysierten Menge Eluats entspricht (1 ml, 2 ml, 2,5 ml). Um einerseits die weiter oben beschriebenen Pipettier- und Filtrierverluste zu korrigieren, andererseits die quantitativen Ergebnisse einheitlich in $\mu g/cm^2$ extrahierter Hautoberfläche angeben zu können, muß der gemessene Extinktionswert ΔE mit verschiedenen Korrektur- bzw. Umrechnungsfaktoren multipliziert werden, die hier vorweggenommen abgeleitet werden sollen.

Korrekturfaktor fp für Pipettier- und Filtrierverluste

Um die tatsächliche Extinktion $\Delta E'$ zu erhalten, ist der Wert der gemessenen Extinktion ΔE mit dem Korrekturfaktor fp für die Verluste beim Pipettieren und Filtrieren zu multiplizieren.

$$\Delta E' = \Delta E \cdot fp$$

$$fp = \frac{\Delta E'}{\Delta E}$$

Um die Pipettierverluste und den Verlust beim Filtrieren abschätzen zu können, wurde von zwei empirischen Annahmen ausgegangen, die experimentell überschlägig nachgeprüft wurden:

a. Die Konzentration der gelösten Hautoberflächensubstanzen ist so gering, daß bei dem Anreicherungsverfahren eine vollständige und über die Extraktionsstufen lineare Löslichkeit angenommen werden kann. Das bedeutet:

nach der 1. Extraktion ist 1/4 der Endsubstanz im Eluat,
nach der 2. Extraktion ist 1/2 der Endsubstanz im Eluat,
nach der 3. Extraktion ist 3/4 der Endsubstanz im Eluat,
nach der 4. Extraktion ist 1/1 der Endsubstanz im Eluat,
auch beim Filtrieren ist 1/1 der Endsubstanz im Eluat.

b. Der Verlust an Eluatmenge ist gleichmäßig auf alle vier Extraktionen und die Filtration verteilt. Das heißt, bezogen auf 1 ml verlorenes Eluat: pro Doppelextraktion verbleiben beim Abpipettieren 0,2 ml auf der Haut und einmalig 0,2 ml im Filtrierpapier. Die Verluste V_{1-5} an bereits gelöster Substanz betragen:

V_1 beim 1. Überpipettieren: 0,2 ml mit 1/4 Endkonzentration
V_2 beim 2. Überpipettieren: 0,2 ml mit 1/2 Endkonzentration
V_3 beim 3. Überpipettieren: 0,2 ml mit 3/4 Endkonzentration
V_4 beim 4. Überpipettieren: 0,2 ml mit 1/1 Endkonzentration
V_5 beim Filtrieren: 0,2 ml mit 1/1 Endkonzentration.

$$V_1 = \frac{0{,}2\ \text{ml} \cdot 0{,}25\ \Delta E'}{20\ \text{ml}} = 0{,}0025\ \Delta E'$$

$$V_2 = \frac{0{,}2\ \text{ml} \cdot 0{,}5\ \Delta E'}{19{,}8\text{ml}} = 0{,}0051\ \Delta E'$$

$$V_3 = \frac{0{,}2\ \text{ml} \cdot 0{,}75\ \Delta E'}{19{,}6\ \text{ml}} = 0{,}0077\ \Delta E'$$

$$V_4 = \frac{0{,}2\ \text{ml} \cdot 1{,}0\ \Delta E'}{19{,}4\ \text{ml}} = 0{,}0103\ \Delta E'$$

$$V_5 = \frac{0{,}2\ \text{ml} \cdot 1{,}0\ \Delta E'}{19{,}2\ \text{ml}} = 0{,}0104\ \Delta E'$$

$$\sum V_{1-5} = 0{,}036$$

$$\Delta E' - 0{,}036\,\Delta E' = \Delta E$$

$$\Delta E' \,(1-0{,}036) = \Delta E$$

$$\frac{\Delta E'}{\Delta E} = \frac{1}{0{,}964} \approx 1{,}037 = fp$$

Dieser Korrekturfaktor gilt für alle auf der Hautoberfläche extrahierten Substanzen in gleichem Maße, so daß er nur für die Absolutwerte der Mengen eine Rolle spielt, nicht jedoch für das Verhältnis der Substanzmengen untereinander.

Es muß hier auch auf die Fragwürdigkeit eines solchen Korrektur-

faktors in der Größenordnung von 3-4% der Gesamtmenge hingewiesen werden, solange nicht die unvermeidliche Fehlerbreite der Gesamtanalyse bestimmt ist. Diese Fehlerbreite für die Bestimmung der absoluten Substanzmengen pro Flächeneinheit extrahierter Hautoberfläche könnte durchaus beträchtlich größer als 4% sein. Zur Klärung wären jedoch aufwendige Versuchsreihen erforderlich, und da der Korrekturfaktor nur in eine Richtung angewendet werden muß, trägt er zur Sicherung der Tendenz der Größenordnung aller fraglichen Substanzmengen bei. Aus diesem Grund wurde er nicht verworfen.

Umrechnungsfaktor f_E aus der Eichkurve

Die gemessenen und korrigierten Extinktionswerte erlauben allein noch keine exakte quantitative Aussage. Sie müssen anhand einer Vergleichskurve (Eichkurve) ausgewertet werden. Diese Eichkurve stellt die Beziehung zwischen Extinktion und Gewicht des gesuchten Stoffes in µg unter Berücksichtigung der methodenbedingten und subjektiven Fehlerquellen her.

Für den Fall, daß eine lineare Proportionalität zwischen Extinktion und gesuchtem Stoffgewicht besteht, stellt die Eichkurve eine Gerade dar, die durch den Nullpunkt des Koordinatensystems geht. In diesem Fall kann man die Steigung der Eichgeraden graphisch bestimmen und die Einzelwerte aller Versuchspersonen mit diesem Faktor aus den gemessenen und korrigierten Extinktionen rechnerisch ermitteln. Voraussetzung für die rechnerische Ermittlung des Gewichts mit dem Faktor f_E ist jedoch, daß alle Proben einschließlich der Standardwerte unmittelbar aufeinanderfolgend mit der gleichen Methode und mit den gleichen Reagenzien untersucht werden, die bei der Erstellung der Eichkurve benutzt wurden.

Für den Fall, daß die Proportionalität zwischen Extinktion und gesuchtem Stoffgewicht nicht linear ist, kann die Umrechnung nicht über den Faktor f_E erfolgen, man muß die Eichkurve benutzen.

Zur Sicherung der Werte wurde im vorliegenden Fall neben dem Umrechnungsfaktor f_E zur Kontrolle stets eine Eichkurve erstellt und bei der Auswertung eingesetzt.

Umrechnungsfaktor f_A Analysenansatz/Gesamteluat

Die im Vorstehenden ermittelten Stoffmengen in µg sind auf ein Standard-Äquivalent von 1; 2 oder 2,5 ml bezogen und demgemäß auch auf eine gleich große Menge Analysenansatz. Um das Äquivalent des gesamten extrahierten jeweiligen Gewichts des fraglichen Stoffes zu erhalten, muß von der Ansatzmenge auf 19,0 ml Gesamteluat umgerechnet werden. Dieser Umrechnungsfaktor f_A beträgt bei den verschiedenen Methoden je nach Menge des Ansatzes

$$f_A = \frac{19{,}0 \text{ ml}}{\text{Ansatz ml}} \qquad \text{z.B.}$$

für die Phenol-Schwefelsäure-Methode: $f_A = 9{,}5$
für die Ferricyanid-Methode: $f_A = 7{,}6$
für die Ninhydrin-Methode: $f_A = 95{,}0$

Umrechnungsfaktor f_F (Gesamtfläche zu 1 cm^2)

Die einheitlich normierende Angabe ug/cm^2 (extrahierte Stoffmenge pro Quadratzentimeter extrahierter Hautoberfläche) erhält man schließlich, indem man die bisher ermittelten Werte durch die Gesamtfläche extrahierter Haut dividiert.

Dies geschieht mit dem Umrechnungsfaktor f_F.

$$f_F = \frac{1}{F} = \frac{1}{8 \cdot r^2 \cdot \pi} = \frac{1}{190{,}07} = 0{,}00526$$

Damit ergibt sich das gesuchte exakte Stoffgewicht pro cm^2:

$$\mu g/cm^2 = \Delta E \cdot fp \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

c. Analyse mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode

Unter den von DUBOIS, GILLES, HAMILTON, REBERS und SMITH (8) ausgearbeiteten Versuchsbedingungen, die nachfolgend detailliert angegeben werden, wurden vor allem die reduzierenden Substanzen der Hautoberfläche erfaßt, im einzelnen: Verschiedene Aminosäuren (Serin, Tyrosin, Cystin und Tryptophan), proteingebundene Zucker, freie Zucker, Milchsäure, Glycerin und Zitronensäure,

freie Kreatinine und verschiedene Zwischenprodukte des Kohlehydratstoffwechsels. Im Gegensatz zur später beschriebenen Ferricyanid-Methode bevorzugt die Analyse mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode die Proteine und proteingebundene Zucker; diese haben einen höheren Einfluß auf den gemessenen Extinktionswert als bei der Ferricyanid-Methode.

Theorie der Phenol-Schwefelsäure-Methode

Nach Angaben von DUBOIS et al. werden die Zucker vermutlich zu Furfurol-Derivaten umgebaut, die dann mit Phenol reagieren, wobei die zur quantitativen Messung benutzte rötlich-orange Farbe (λ max. Glucose bei 480 ...490 nm) entsteht. Verschiedene Zucker bilden bei diesem Prozeß verschiedene Absorptionsmaxima: für Pentosen, methylierte Pentosen und Uronsäuren liegt dieses Maximum bei etwa 480 nm, für Hexosen, Disaccharide, Oligo- und Polysaccharide einschließlich ihrer methylierten Derivate, die ein freies oder potentiell freies reduzierendes Radikal besitzen, liegt das Absorptionsmaximum bei etwa 490 nm.

Verwendete Reagenzien

a. konzentrierte Schwefelsäure p.A. 95..... 97% (Merck 731)
b. 80%iges Phenol (80 g Phenol p.A. Merck 206 und 20 ml aqua bidest)
c. Glucose-Standardlösung (Boehringer Glucose: 9,1 mg pro 100 ml)

Analyse

Im Labor unseres Hauses galt folgende Analysenvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:
"Zu 2,0 ml der zu untersuchenden Lösung (15 bis 60 µg Zucker enthaltend) werden mit einer Eppendorf-Pipette 50 µl 80%iges Phenol gegeben. Die Proben werden dann vier Mal nacheinander gut geschüttelt, dann läßt man aus einer geeichten Vollpipette 5 ml konzentrierte Schwefelsäure aus einigen Zentimeter Höhe zentral auf die Flüssigkeitsoberfläche schießen, damit es zu einer gleichmäßigen Verteilung der Mischungswärme kommt. Das ist sehr wichtig, da die für die Reaktion benötigte Energie aus dieser Mischungswärme gezogen wird. Der letzte Rest in der Pipette wird ausgeblasen.

Nachdem alle Proben so behandelt wurden, werden die Gläser mit dem Schliffstopfen verschlossen und der Reihe nach kurz geschüttelt.
Die Proben bleiben so für 30 Minuten bei Raumtemperatur im Reagenzglasgestellt stehen, wobei zwischen den Schliffgläsern jeweils ein Platz frei bleiben soll, damit es zu einer gleichmäßigen Abkühlung kommen kann.
Sofort anschließend werden die Proben im Eppendorf-Photometer bei 492 nm gegen einen Blindwert (enthält statt der Untersuchungslösung 2,0 ml aqua bidest.) gemessen. Der Blindwert bestimmt den Nullpunkt der Photometerskala, er wird vorher noch gegen Luft gemessen (BW $\approx$ 0,070...0,080). Zur Kontrolle der Übereinstimmung mit der Eichkurve läßt man 2 Standardwerte (bei etwa 1/3 und 2/3 der Eichungsreihe) mitlaufen."

Auswertung

Die so gewonnenen Extinktionswerte erlauben allein noch keine exakte quantitative Aussage. Wie bereits in Absatz II 2 C b erläutert, müssen sie anhand einer Eichkurve ausgewertet werden und ergeben dann Werte für eine äquivalente Menge Glukose in dem 2,0 ml Eluat-Ansatz.

Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:
"Es werden 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 .... 1,0 ml der Standard-Glukose-Lösung in den Ansatz gegeben und jeweils mit aqua bidest. auf 2,0 ml aufgefüllt. Dann wird genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift beschrieben."

Aus der Eichkurve (Abb. 16) könnte die einer bestimmten Extinktion äquivalente Glukosemenge in µg pro 2,0 ml Eluat-Ansatz direkt abgelesen werden. Da die ermittelte Eichkurve eine relativ genaue Gerade durch den Nullpunkt des Koordinatensystems darstellte, wurde die Steigung der Geraden bestimmt und damit auch der Umrechnungsfaktor f_E.

$$f_E = 103,6$$

Da alle Proben einschließlich der Standardwerte unmittelbar aufeinander folgend mit gleicher Methode und gleichen Reagenzien untersucht wurden, konnten alle Werte mit den entsprechenden Faktoren rechnerisch aus den gemessenen Extinktionen ermittelt

werden. Der dieser Versuchsreihe gemeinsame Umrechnungsfaktor war:

$$f = f_p \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

$$f = 1{,}037 \cdot 103{,}6 \cdot 9{,}5 \cdot 0{,}00526$$

$$f = 5{,}37$$

$$\mu g/cm^2 = 5{,}37 \cdot \Delta E$$

d. Analyse mit der Ferricyanid-(Reduktions-)Methode

Mit dieser Methode werden unter den nachstehend genau beschriebenen Versuchsbedingungen, wie sie PARK und JOHNSON (44) angegeben haben, reduzierende Substanzen des Eluats erfaßt. Im Gegensatz zur Phenol-Schwefelsäure-Methode beeinflussen hier die Aminosäuren (Serin, Tyrosin, Cystin und Tryptophan) sowie die Aminozucker (z.B. Glukoseamine) besonders das Ergebnis. Erfaßt werden daneben auch andere gebundene Zucker, Milchsäure, Zitronensäure und Glycerin.

Zur Theorie der Methode

Kaliumhexacyanoferrat (III) wird von reduzierenden Substanzen in Kaliumhexacyanoferrat (II) übergeführt:

$$K_3^+[Fe(CN)_6]^{3-} \longrightarrow K_4^+[Fe(CN)_6]^{4-}$$

das heißt: $Fe^{3+} \longrightarrow Fe^{2+}$

Wenn man Lösungen dieser Komplexverbindungen mit Eisensalzlösungen, die Eisen der jeweils anderen, nicht im Komplex vorhandenen Oxydationszahl enthält, versetzt, entsteht das tief dunkelblaue sogenannte 'Berlinerblau'. Kaliumhexacyanoferrat (II) kann also durch Zugabe von Fe^{3+}-Ionen als 'Berlinerblau' nachgewiesen werden und damit zur quantitativen photometrischen Messung benutzt werden.

Unter geeigneten Bedingungen vermögen auch Zucker diese Reduktion zu bewirken. Als besonders günstig hat sich hierfür ein Milieu von pH $>$ 10,5 und die Gegenwart von CN^- als Katalysator erwiesen. Unterhalb des pH-Wertes von 10,5 erhöhen sich die Reaktionszeiten beträchtlich. Man muß also dafür sorgen, daß

saure Untersuchungslösungen vorher, z.B. durch angemessene Zugaben von Natriumkarbonat, gepuffert werden.

Das grenzflächenaktive Tensid Natriumlaurylsulfat (Lsg. IIa) wird nur zugesetzt, um den zur Messung benötigten kolloidalen Farbstoff, der alsbald auszufallen beginnt, in Dispersion zu halten. Für die Analysenreaktion selbst hat es keinerlei Bedeutung. Geringere Konzentrationen als angegeben haben sich als unzureichend erwiesen, ebenso die Zugabe von Methylzellulose in Lsg. III.

Da die Methode außerordentlich empfindlich ist, muß die oben beschriebene spezielle Reinigung aller Glasteile mit größter Sorgfalt beachtet werden. Am empfindlichsten ist diese Methode im Bereich von 690 nm, aus Gründen der Vereinfachung wurde die etwas weniger empfindliche Messung bei 578 nm bevorzugt, zumal sich dabei die leichte, durch das Natriumlaurylsulfat bedingte 'Linksverschiebung' der Spektralkurve günstiger auswirkt.

Verwendete Reagenzien

a. Lsg. I 0,5 g Kaliumhexacyanoferrat (III) p.A. $K^+_3[Fe(CN)_6]^{3-}$ (Fa. Riedel-de Haen AG, Hannover) pro 1000 ml Aqua bidest.

b. Lsg. II 5,3 g Natriumkarbonat wasserfrei p.A. (Merck 6392) + 0,65 g Kaliumcyanid p.A. (Merck 4976) pro 1000 ml Aqua bidest.

c. Lsg.IIa 5,0 g Natriumlaurylsulfat p.A. (Fa. Carl Roth, Karlsruhe) pro 1000 ml Aqua bidest.

d. Lsg. III 3,0 g Ammonium-Eisen-III-Sulfat p.A. $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$ (Merck 3776) + 50 ml 1n-Schwefelsäure p.A. pro 1000 ml Aqua bidest.

e. Glucose-Standardlösung (Boehringer Glucose: 9,1 mg/100 ml) 1:9, d.h. auf 1/10 mit Aqua bidest. verdünnt.

Analyse

Im Labor unseres Hauses gilt die folgende Analysenvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:

"Zu 2,5 ml Untersuchungslösung mischt man 1,0 ml Lsg. I, 1,0 ml Lsg. II und vorsichtig 0,5 ml Lsg. IIa (keine Luftblasen erzeugen, Schaumbildungsgefahr!). Die Proben werden anschließend für 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt und dann unter fließendem Wasser auf ca. 20°C abgekühlt.
In die abgekühlten Proben läßt man langsam unter Vermeidung von Luftblasen 5,0 ml Lsg. III zulaufen und mischt vorsichtig ohne Schaumbildung. Die Proben werden dann im Eppendorf-Photometer bei 578 nm gegen einen Blindwert (enthält statt der Untersuchungslösung 2,5 ml Aqua bidest.) gemessen. Der Blindwert enthält wie alle Proben etwas reduzierende Substanz aus dem Natriumlaurylsulfat, er wird zuvor gegen Luft gemessen und liegt etwa bei 0,150...0,160. Er dient zur Nullpunkteinstellung der Photometerskala bei den nachfolgenden Probemessungen.
Zur Kontrolle der Übereinstimmung mit der Eichkurve läßt man zwei Standardwerte (bei etwa 1/3 und 2/3 der Eichungsreihe) mitlaufen."

Auswertung

Wie bei der Phenol-Schwefelsäure-Methode erlauben die so gewonnenen Extinktionswerte nur anhand einer Eichkurve exakte quantitative Aussagen über eine dem Glucosestandard äquivalente Menge reduzierende Substanz in den 2,5 ml Untersuchungslösung.

Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:
"Es werden 2,0 ml der Standardglucose (91 µg/ml) und 18,0 ml Aqua bidest. gut gemischt, so daß eine auf 1/10 verdünnte Standardglucose (9,1 µg/ml) entsteht. Von dieser Standard-Glucose-Verdünnung werden 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0;....2,0 ml in jeweils einen Eichsatz gegeben und mit Aqua bidest. jeweils auf 2,5 ml aufgefüllt. Dann wird genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift angegeben."

Aus der so ermittelten Eichkurve (Abb. 17) konnte die einer bestimmten Extinktion äquivalente Glucosemenge der zu untersuchenden 2,5 ml Eluat direkt abgelesen werden. Da aber auch diese Eichkurve eine relativ genaue Gerade durch den Nullpunkt des Koordinatensystems darstellte, konnte wiederum die Steigung der Geraden und damit der Umrechnungsfaktor f_E errechnet werden:

$$f_E = 28{,}09$$

Da wiederum alle Proben einschließlich der Standardwerte unmittelbar aufeinander folgend mit gleicher Methode und gleichen Reagenzien untersucht wurden, konnten die Werte aller Versuchspersonen mit den entsprechenden Faktoren rechnerisch aus den gemessenen Extinktionen bestimmt werden. Der dieser Versuchsreihe gemeinsame Umrechnungsfaktor war:

$$f = f_p \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

$$f = 1{,}037 \cdot 28{,}09 \cdot 7{,}6 \cdot 0{,}00526$$

$$\underline{f = 1{,}165}$$

$$\mu g/cm^2 = 1{,}165 \cdot E$$

e. Analyse mit der Ninhydrin-Methode

Mit dieser von MOORE und STEIN (39) beschriebenen Methode werden vor allem die Aminosäuren unter den wasserlöslichen Substanzen der Hautoberfläche erfaßt, aber auch Peptide, Proteine, Amine und Ammoniumverbindungen. Sie reagiert sowohl auf freie wie auch auf gebundene Aminogruppen. Diese Methode umfaßt damit einen relativ weiten Reaktionsbereich, ist aber andererseits sehr empfindlich. Während der Analyse nach dieser Methode ist darauf zu achten, daß Ammoniak und alle anderen Substanzen, die eine Amino- oder Ammoniumgruppe enthalten, zu Fehlern in der Methodik führen können.

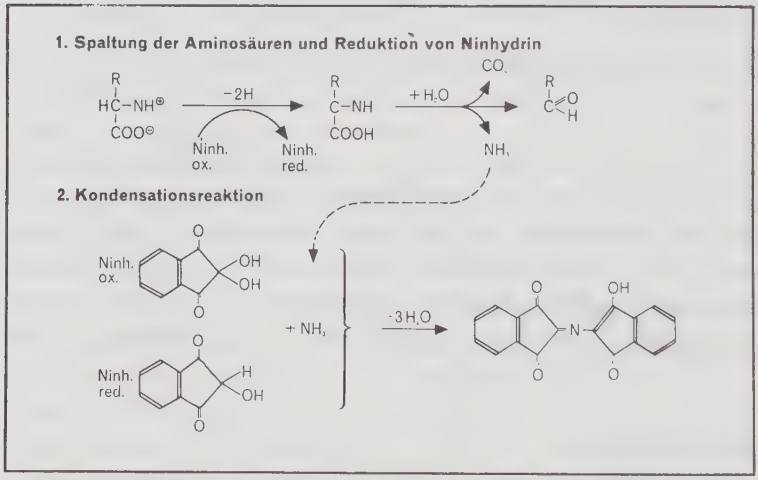
Zur Theorie der Methode

Prinzip und Reaktionsablauf beschreibt AEBI (1) S. 172-173 wie folgt:
"Ninhydrin (1,2,3-Triketohydrindehydrat) gibt beim Kochen in neutraler oder saurer Lösung beim Vorhandensein irgendwelcher $-NH_2$ enthaltender Verbindungen einen blauvioletten Farbstoff.
Beim Kochen kommt es in Gegenwart von Ninhydrin vorerst zu einer oxydativen Desaminierung und zugleich Dekarboxylierung der Aminosäure. Dabei entsteht einerseits der um ein C-Atom ärmere Aldehyd nebst freiem NH_3 und CO_2, andererseits wird Ninhydrin in äquivalenter Menge zu Hydrindantin reduziert. In einem zweiten Schritt kondensieren je ein Molekül Ninhydrin, Hydrindantin und

NH_4^+ zu einem blauen Farbstoff, dessen Struktur derjenigen des Indigo ähnlich ist.
Zur quantitativen Erfassung kann je nach Situation entweder der gebildete Farbstoff oder das freigesetzte CO_2 als Maß genommen werden."

Es wurde hier der Farbstoff zur Messung bevorzugt.

Die verschiedenen Aminosäuren ergeben alle die gleichen Farbstoffe, nämlich blauviolette bis blaue, lediglich Prolin und Hydroxyprolin ergeben eine gelbe, hellere Farbe. Während die blauviolette Farbe mit einem gefilterten Licht von 578 nm gemessen wird, muß Prolin und Hydroxyprolin bei 440 nm bestimmt werden.



Reduktionsablauf bei der Ninhydrinprobe (AEBI)

Verwendete Reagenzien

a. Ninhydrin-Reagenz:
5,0 g Ninhydrin p.A. (Merck 6762) und
0,75 g Hydrindantin p.A. (Merck 4510) werden unter Vermeidung von Blasen unter Stickstoffschutz in 187,5 ml Methylcellosolve (Merck 859) = Äthylenglycolmonomethyläther aufgelöst, dann werden 62,5 ml 4n Natriumacetat-Puffer pH 5,5 langsam zuge-

geben. Die vorher gelbe Lösung muß dabei dunkelrot werden. Diese Lösung muß in einer braunen Flasche lichtgeschützt, unter Stickstoffschutz im Kühlschrank aufbewahrt werden. Deshalb empfiehlt es sich, für den aktuellen Bedarf ca. 50 ml separat ebenfalls in eine braune Flasche abzufüllen. (Durch Lagerung oder durch mangelhaften Stickstoffschutz gelb gewordenes Reagenz kann allenfalls für halbquantitative, keinesfalls jedoch für exakt quantitative Bestimmungen benutzt werden.)

b. Natriumacetat-Puffer pH 5,5:
272 g Natriumacetat-Trihydrat ($CH_3COONa \cdot 3\ H_2O$) p.A. (Merck 6267) werden in 200 ml Aqua bidest. gelöst, wobei das Glas in ein heißes Wasserbad zu stellen ist. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden 50 ml Eisessig p.A. (Merck 90062) zugegeben, und der gesamte Ansatz wird auf 500 ml mit Aqua bidest. aufgefüllt.
Der pH-Wert der Pufferlösung sollte 5,1 $\pm$ 0,03 sein; gegebenenfalls kann mit festem NaCl nachgestellt werden (0,5 g $\triangleq$ 0,04 pH). Die Pufferlösung wird ebenfalls mit Stickstoff begast und im Kühlschrank lichtgeschützt aufbewahrt.

c. Leucin-Standard
1,3118 g ($\triangleq$ 0,01 Mol) l-Leucin (Chr.Fluka AG, Buchs SG) werden in 1000 ml Aqua bidest. gelöst. Dieses Standard-Konzentrat enthält 10 µM/ml. Von dem Standard-Konzentrat werden 40 ml entnommen und mit Aqua bidest. auf 1000 ml verdünnt. Damit hat man einen Leucin-Standard mit 0,4 µM/ml. Sowohl das Standard-Konzentrat wie auch der Leucin-Standard müssen (in Plastikflaschen!) eingefroren aufbewahrt werden.

d. 50%iges Äthanol
Man mischt 500 ml Äthanol (Äthylalkohol 96%, evtl. vergällt) mit 500 ml Aqua bidest. Diese Mischung ist natürlich nicht genau 50%ig, reicht aber für den Zweck völlig aus.

Analyse

Im Labor unseres Hauses galt die folgende Analysenvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:
"Zu 0,2 ml Untersuchungslösung gibt man 0,8 ml Aqua bidest. und

1,0 ml Ninhydrinreagenz (nach Entnahme die Flasche sofort wieder in den Kühlschrank stellen!), schüttelt vorsichtig und stellt den Ansatz für 15 min in ein kochendes Wasserbad. Anschließend wird er im Eiswasserbad (ca. 5°C) abgekühlt und mit dem 50%igen Äthanol auf 10 ml aufgefüllt.
Die Proben werden nach vorsichtigem Mischen mit dem Eppendorf-Photometer bei 578 nm gegen einen Blindwert gemessen, der statt der Untersuchungslösung 1,0 ml Aqua bidest. enthält. Der Blindwert wird vorher gegen Luft gemessen, er liegt etwa zwischen 0,090...0,100 und dient zur Nullpunkt-Einstellung der Photometerskala bei den Probemessungen. Zur Kontrolle läßt man zwei Standardwerte (bei etwa 1/3 und 2/3 der Eichungsreihe) mitlaufen."

Auswertung

Wie bei den vorangegangenen Analysenmethoden erlauben die so gewonnenen Extinktionswerte quantitative Aussagen nur anhand einer Eichkurve, und dann auch nur solche über eine dem Leucinstandard äquivalente Menge Aminosäuren in der Untersuchungslösung.

Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift:
"Es werden 0,1; 0,2; 0,3;...1,0 ml Leucinstandard jeweils in den Ansatz gegeben und mit Aqua bidest auf jeweils 1,0 ml aufgefüllt. Dann wird genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift angegeben."

Aus der so ermittelten Eichkurve (Abb. 18) konnte die einer bestimmten Extinktion äquivalente Menge Leucin direkt in nMol bzw. µg abgelesen werden.

Da aber auch diese Eichkurve durch den Koordinaten-Nullpunkt geht und im Bereich der auszuwertenden Extinktionswerte eine nahezu exakte Gerade bildet, wurde aus der Steigung der Geraden der Umrechnungsfaktor f_E bestimmt:

$$f_E = 459{,}8 \cdot 0{,}13118 = 60{,}32$$

Alle Proben einschließlich der Standardwerte wurden unmittelbar aufeinander folgend mit der gleichen Methode und gleichen Rea-

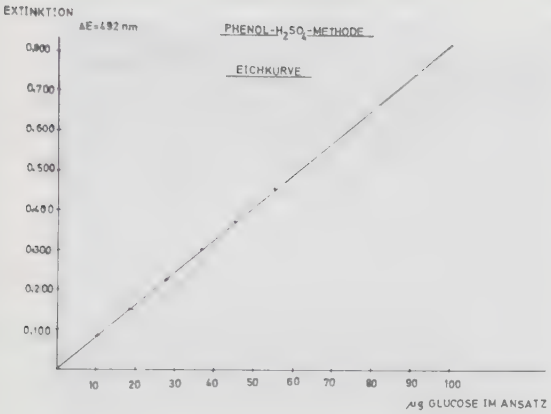


Abb. 16
Eichkurve für die Phenol-H_2SO_4-Methode

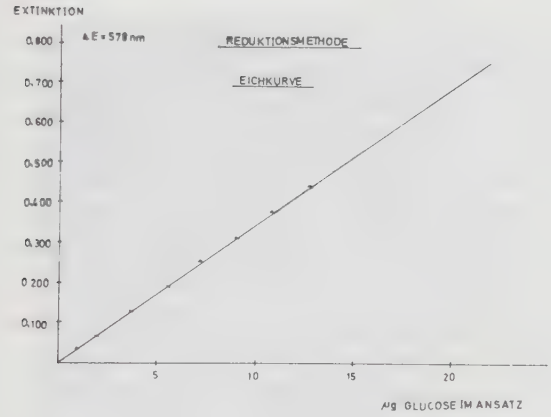


Abb. 17
Eichkurve für die Ferricyanid-(Reduktions-) Methode

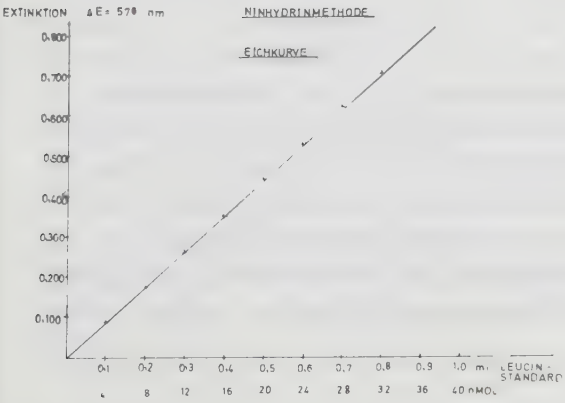


Abb. 18
Eichkurve für die Ninhydrin-Methode

genzien untersucht. Deshalb konnten alle Werte mit den entsprechenden Faktoren zusätzlich zu den aus der Eichkurve ermittelten rechnerisch aus den gemessenen Extinktionen bestimmt werden. Der dieser Versuchsreihe gemeinsame Faktor f war:

$$f = f_p \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

$$f = 1{,}037 \cdot 60{,}32 \cdot 95{,}0 \cdot 0{,}00526$$

$$f = 31{,}26$$

$$\mu g/cm^2 = 31{,}26 \cdot \Delta E$$

D. Bestimmung der Alkalineutralisations-Kapazität der Hautoberfläche

Es wurde nach der Methode vorgegangen, wie sie von BURCKHARDT (3) beschrieben wurde. Untersuchungsstelle war bei allen Versuchspersonen die Beugeseite des rechten Unterarms etwa 5 cm oberhalb des Handgelenks (Abb. 19).

Verwendet wurde 1/80n NaOH-Lösung, welche (Luft-CO_2-Neutralisation!) stets aus einer 1n NaOH-Lösung frisch angesetzt wurde, eine 0,5%ige Phenolphthalein-Lösung als Indikator, Tropfpipetten (Pasteurpipetten), die eine praktisch konstante Tropfengröße abgaben, ein Glasblock von 30 x 20 mm und 15 mm Dicke und eine handelsübliche Stoppuhr.

Auf der gesunden, waagerecht liegenden Haut des Unterarms wurde an der oben angegebenen Stelle ein Feld von 35 x 25 mm mit einem Schreiber markiert (Abb. 19).

In das Feld wurde ein Tropfen Indikatorlösung getropft, sofort anschließend ein Tropfen der 1/80 n Natronlauge und dann wurde das Feld mit dem Glasblock zugedeckt, der zur gleichmäßigen Durchmischung der Flüssigkeitsschicht alle 30 Sekunden etwas angehoben und wieder aufgelegt wurde.

Die zunächst rote Flüssigkeitsschicht entfärbte sich bei Neutralisation (pH 8,3) bis auf ein kaum sichtbares Rosa. Gemessen wurde die Zeit vom Auftropfen der Natronlauge bis zur Entfärbung. Unmittelbar nach Beendigung der Messung wurde die mar-

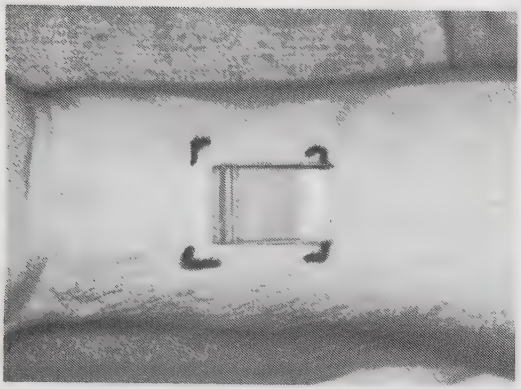


Abb. 19
Markiertes Feld an der Beugeseite des rechten Unterarmes mit aufgelegtem Glasblock für die Bestimmung der Alkalineutralisations-Kapazität.

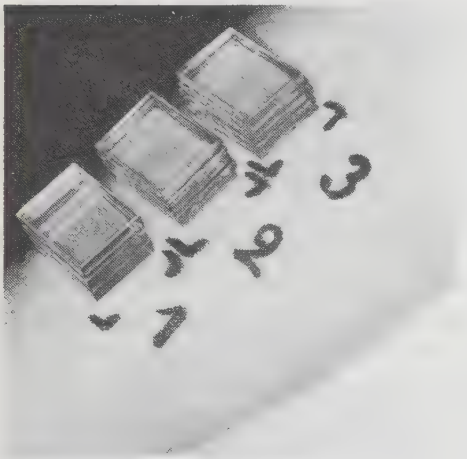


Abb. 20
Markierung der Haut für die Alkaliresistenzprobe und das Aufbringen der Glasblöcke.

kierte Hautstelle mit einem frischen Zellstofftuch sorgfältig trockengetupft und der gleiche Versuch an der gleichen Stelle solange wiederholt, bis zehn Messungen vorlagen.

Es wurde darauf geachtet, daß die Reihenfolge der Handgriffe, die eine beachtliche Schnelligkeit erforderten, immer die gleiche blieb. Das Auftropfen wurde mit der rechten, das Abdecken mit der linken vollzogen, während der Proband die Stoppuhr betätigte.

E. Bestimmung der Alkaliresistenz der Hautoberfläche

Bei dieser Untersuchung wurde nach der Methode vorgegangen, wie sie ebenfalls von BURCKHARDT (3) beschrieben wurde.

Untersuchungsstelle war bei allen Versuchspersonen die Beugeseite des rechten Unterarmes etwa in der Mitte zwischen Hand- und Ellenbogengelenk.

Verwendet wurde eine 0,5 n NaOH-Lösung, Tropfpipetten (sog. Pasteurpipetten), die eine praktisch konstante Tropfengröße abgaben, drei Glasblöcke der Größe 30 x 20 mm und 15 mm Dicke und eine handelsübliche Kurzzeitweckuhr.

Auf der gesunden, waagerecht liegenden Haut wurden drei nebeneinander liegende Felder von 35 x 25 mm mit einem Schreiber markiert (Abb. 20). Dann wurde auf alle drei Felder je ein Tropfen der 0,5 n Natronlauge appliziert. Die Tropfen wurden mit den drei Glasblöcken bedeckt, die wiederum mit Heftpflasterstreifen fixiert wurden.

Nach 10 Minuten (Kurzzeitweckuhr!) wurden die Glasblöcke entfernt und die markierten Felder mit frischen, weichen Zellstofftüchern vorsichtig trockengetupft. Falls die Haut innerhalb der Markierung noch keine Reaktion zeigte, wurden die zwei proximal gelegenen Felder erneut mit je einem Tropfen der 0,5 n Natronlauge versehen und mit den fixierten Glasblöcken, die vorher saubergeupft werden mußten, abgedeckt. Nach weiteren zehn Minuten wurde erneut abgetupft und kontrolliert und - wenn keine Reaktion vorlag - das proximal gelegene Feld erneut für zehn Minuten mit einem Tropfen Natronlauge versehen. Als Reaktionen wurde folgendes in Betracht gezogen: punktförmige oder flächenförmige Rötung, Bläschen, Urtica oder andere Effloreszenzen. Nach Abschluß der Untersuchung wurden alle drei Felder mit destilliertem Wasser gründlich gesäubert und mit Vaseline etwas eingefettet.

Bei der Untersuchung wird also das distale Feld für 10 Minuten, das mittlere für 20 Minuten, das proximale für 30 Minuten der Natronlauge ausgesetzt, falls nicht eine vorzeitige Reaktion ein weiteres Belassen der Natronlauge auf der Haut überflüssig macht.

Bewertet wurde, ob eine der oben beschriebenen Reaktionen nach 10; 20 oder 30 Minuten Laugeneinwirkung oder gar nicht eintrat.

F. Bestimmung der Benetzbarkeit mit wäßrigen Lösungen (Spreitung)

Bei dieser Untersuchung wurde nach der ursprünglich von JAKOBI angegebenen und später von SCHNEIDER und SCHULEIT (49) sowie von TRONNIER und JESSEN (64) modifizierten Methode vorgegangen.

Prinzip der Methode ist es, einen Tropfen einer wäßrigen Lösung von konstanter 'Größe auf die Haut zu bringen und die durch sein Breitfließen innerhalb einer bestimmten Zeit erreichte Vergrößerung der Fläche zu messen, die er zu benetzen imstande ist.

Als hydrophile Testlösung wurde wegen des Farbkontrastes eine 0,15%ige wäßrige Lösung von Methylenblau benutzt. Die konstante Ausgangsgröße des Tropfens wurde mit einer Tropfpipette erreicht, die es ermöglicht, die Fallhöhe des Tropfens konstant bei 7,5 mm zu halten (Abb. 21). Diese Fallhöhe soll so liegen daß zwischen dem Abreißen des Tropfens von der Pipettenspitze und dem Auftreffen auf der Haut eine möglichst geringe Entfernung liegt.

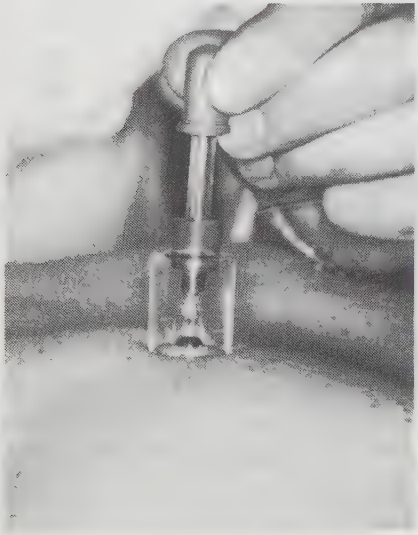


Abb. 21
Tropfpipette für die 0,15%ige Methylenblaulösung.

Gemessen wurde die Tropfenbenetzungsfläche durch Photographieren senkrecht von oben aus konstant genauer Entfernung. Es ist dabei anzumerken, daß auf diese Weise wegen der Krümmung des Tropfens infolge der Oberflächen- bzw. Grenzflächenspannung nicht die exakte Benetzungsfläche erfaßt wird, sondern der maximale Tropfenquerschnitt. Doch hat diese Methode den Vorteil, die Meßgröße sekundengenau festzuhalten. Der Fehler, der durch diese Methode bedingt ist, geht bei seiner Geringfügigkeit überdies in alle Messungen gleich ein, so daß er sich weitestgehend selbst eliminiert.

Untersuchungsstelle war bei allen Versuchspersonen die Beugeseite des linken Unterarms etwa in der Mitte zwischen Hand- und Ellenbogengelenk. Der Arm wurde während der Untersuchung weitestgehend ruhiggestellt, da jede Bewegung, auch schon ein Zittern, die Spreitung des Tropfens stark vergrößerte.

Die Tropfengröße wurde bei den meisten Versuchspersonen zur Kontrolle der konstanten Ausgangsgröße unmittelbar nach der Applikation photographisch festgehalten; die Photographie des Meßwertes erfolgte genau 60 Sekunden später.

Die quantitative Auswertung dieser Untersuchung erfolgte durch Auszählung der Quadratmillimeter innerhalb der Tropfenfläche auf dem Filmnegativ, unter das Millimeterpapier gelegt wurde (Abb. 22). Die absolute Tropfenfläche wurde durch Vergleichsphotos von Millimeterpapier ermittelt.

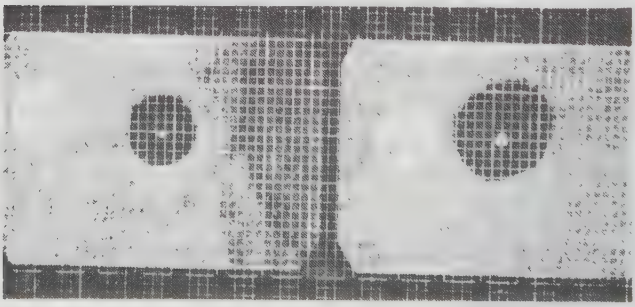


Abb. 22
Größe eines Methylenblau-Tropfens nach 1minütiger Applikationszeit.

G. Statistische Auswertungsmethoden

Vom statistischen Standpunkt aus erfüllen die Zwillingskollektive die Voraussetzung unausgewählter Stichproben. Dasselbe gilt für das Zahlenverhältnis zwischen eineiigen Zwillingen und zweieiigen Zwillingen ebenso wie für die Altersverteilung der beiden Kollektive, die nahezu identisch war.

Statistisch weniger befriedigend ist die Geschlechtsverteilung, da der Anteil weiblicher Zwillinge bei den zweieiigen Zwillingen deutlich höher lag.

Bei der untersuchten Altersgruppe bestehen bezüglich der Hautoberflächenlipidmenge, der Alkalineutralisationszeit und der Alkaliresistenz beträchtliche Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Bei weiblichen Versuchspersonen ist die Hautoberflächenlipidmenge durchschnittlich wesentlich größer und die Alkalineutralisationszeit durchschnittlich wesentlich kleiner als bei männlichen Versuchspersonen (17). Bei der Alkaliresistenz sind die Unterschiede relativ unerheblich. Wegen der erheblichen Unterschiede bei der Geschlechtsverteilung hat die Bewertung absoluter Meßwertdifferenzen als Maß für die Diskordanz zwischen den Zwillingen nur dann einen Sinn, wenn die absoluten Meßwertdifferenzen mit dem durchschnittlichen absoluten Meßwert für jedes Zwillingspaar in ein Verhältnis gesetzt wird. Deshalb wurde bezüglich der Hautoberflächenlipide und der Alkalineutralisationszeit dieses Verhältnis in Prozenten ausgedrückt. Hinsichtlich dieser Verhältniszahlen wurde das Kollektiv der eineiigen Zwillinge mit dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge über den U-Test nach WILCOXON, MANN und WHITNEY verglichen, gegebenenfalls auch mit Rangaufteilung (46).

Bei der Auswertung der Alkaliresistenz wurde beurteilt, ob das Testergebnis bei den Zwillingen identisch war oder nicht. Der statistische Vergleich zwischen den eineiigen und den zweieiigen Zwillingen erfolgte dann über eine Vierfeldertafel, die anhand eines Tabellenwerkes (9) beurteilt wurde.

Für die statistische Auswertung der sogenannten Wasserlöslichen wurden die durchschnittlichen Meßwertdifferenzen zwischen den Zwillingen verwendet.

III. Ergebnisse

A. Einzelergebnisse

Die Einzelergebnisse aller Versuche sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefaßt.

Die Tabellen sind so angeordnet, daß jeweils die Einzelergebnisse der eineiigen bzw. der zweieiigen Zwillinge übersichtlich miteinander zu vergleichen sind.

Serologische Ergebnisse zur Eiigkeitsdiagnose

Nr.	ABO	Rh	MNSs	Kell	Duffy	Hp	Gc	acP	PGM	ADA	AK	DIAGNOSE
3/4	B	$\bar{c}\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MS$\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	2-1	2-1	AB	1-1	1-1	1-1	EZ
	B	$\bar{c}\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MS$\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	2-1	2-1	AB	1-1	1-1	1-1	
13/14	A_1	$C\bar{c}D\cdot E\bar{e}$ Cw^-	MN$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	2-2	1-1	AB	1-1	1-1	1-1	EZ
	A_1	$C\bar{c}D\cdot E\bar{e}$ Cw^-	MN$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	2-2	1-1	AB	1-1	1-1	1-1	
15/16	A_1	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MNSS	$K\bar{k}$	a^-	2-2	1-1	BB	1-1	1-1	1-1	EZ
	A_1	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MNSS	$K\bar{k}$	a^-	2-2	1-1	BB	1-1	1-1	1-1	
21/22	A_1	$C\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	N$\bar{s}\bar{s}$	$K\bar{k}$	a^+	2-1	2-1	AB	1-1	1-1	1-1	EZ
	A_1	$C\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	N$\bar{s}\bar{s}$	$K\bar{k}$	a^+	2-1	2-1	AB	1-1	1-1	1-1	
23/24	A_1B	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	N$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^-	2-1	1-1	BC	1-1	1-1	1-1	EZ
	A_1B	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	N$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^-	2-1	1-1	BC	1-1	1-1	1-1	
29/30	0	$\bar{c}\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MNSS	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	2-2	2-1	AB	1-1	1-1	1-1	EZ
	0	$\bar{c}\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MNSS	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	2-2	2-1	AB	1-1	1-1	1-1	
31/32	B	$CCD\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MN$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	1-1	2-1	BB	1-1	1-1	2-1	EZ
	B	$CCD\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MNss	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	1-1	2-1	BB	1-1	1-1	2-1	
39/40	A_1	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MNSS	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	1-1	2-1	AA	1-1	1-1	1-1	EZ
	A_1	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MNSS	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	1-1	2-1	AA	1-1	1-1	1.1	
43/44	0	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	M$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^-	1-1	1-1	BB	1-1	1.1	1.1	EZ
	0	$C\bar{c}D\cdot\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	M$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^-	1-1	1-1	BB	1-1	1-1	1-1	
47/48	B	$C\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MN$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	1-1	2-1	AB	2-1	2-1	2-1	EZ
	B	$C\bar{c}dd\bar{e}\bar{e}$ Cw^-	MN$\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^+	1-1	2-1	AB	2-1	2-1	2-1	

53/54	A_1	$C\bar{c}D^{\cdot}E\bar{e}$ Cw^{-}	$MN\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{+}	2-1	1-1	BB	1-1	1-1	1-1	EZ
	A_1	$C\bar{c}D^{\cdot}E\bar{e}$ Cw^{-}	$MN\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{+}	2-1	1-1	BB	1-1	1-1	1-1	
55/56	A_1	$\bar{c}\bar{c}\bar{d}\bar{d}\bar{e}\bar{e}$ Cw^{-}	$MN\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{-}	1-1	1-1	AB	1-1	1-1	1-1	EZ
	A_1	$\bar{c}\bar{c}\bar{d}\bar{d}\bar{e}\bar{e}$ Cw^{-}	$MN\bar{s}\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{-}	1-1	1-1	AB	1-1	1-1	1-1	
57/58	0	$CCD^{\cdot}\bar{e}\bar{e}$ Cw^{-}	$MNS\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{-}	2-2	2-1	BB	1-1	1-1	1-1	EZ
	0	$CCD^{\cdot}\bar{e}\bar{e}$ Cw^{-}	$MNS\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{-}	2-2	2-1	BB	1-1	1-1	1-1	
71/72	A_1	$C\bar{c}D^{\cdot}\bar{e}\bar{e}$ Cw^{-}	$MNS\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{-}	2-2	1-1	B	1-1	2-1	1-1	EZ
	A_1	$C\bar{c}D^{\cdot}\bar{e}\bar{e}$ Cw^{-}	$MNS\bar{s}$	$\bar{k}\bar{k}$	a^{-}	2-2	1-1	B	1-1	2-1	1-1	

A. Eineiige Zwillige

Pat.Nr.	Alter/ Geschlecht	Lipidmenge (mg) 1.Zw.	2.Zw.	Diff.
3/4	6 / w	0,248	0,209	0,039
13/14	11/ m	0,295	0,297	0,002
15/16	8 / w	0,666	0,628	0,038
21/22	12/ w	1,360	1,346	0,014
23/24	7 / w	0,533	0,463	0,070
29/30	14/ m	0,487	0,364	0,123
31/32	12/ m	0,703	0,589	0,114
39/40	14/ m	1,409	1,170	0,239
43/44	11/ w	0,537	0,410	0,127
47/48	9 / w	0,771	0,532	0,239
53/54	10/ m	0,368	0,533	0,165
55/56	11/ m	0,3705	0,3135	0,057
57/58	11/ w	0,458	0,4195	0,0385
71/72	7 / m	0,315	0,7815	0,4665

B. Zweieiige Zwillinge

1/2	9 / m	0,721	0,596	0,125
5/6	9 / w	1,444	0,935	0,509
9/10	10/ w	1,079	1,574	0,495
11/12	15/ w	1,483	4,701	3,218
17/18	7 / w	0,550	0,302	0,248
19/20	7 / w	0,665	0,296	0,369
25/26	9 / m	0,373	0,183	0,190
27/28	7 / w	0,669	0,759	0,090
33/34	6 / w	0,443	0,480	0,037
35/36	7 / m	0,621	0,271	0,350
37/38	7 / w	0,720	1,774	1,054
41/42	13/ w	1,9315	0,822	1,1095
45/46	12/ w	0,801	0,701	0,100
49/50	7 / w	1,0885	1,167	0,0785
51/52	7 / w	-----	-----	-----
59/60	10/ w	0,349	1,689	1,340
61/62	8 / m	0,361	0,555	0,194
63/64	13/ m	2,0255	0,5135	1,512
65/66	8 / w	0,2705	0,290	0,0195
67/68	7 / m	-----	-----	-----
69/70	7 / w	0,5135	0,2465	0,267
75/76	12/ w	0,698	1,7035	1,0055
77/78	14/ w	1,490	1,087	0,403
79/80	8 / w	0,5185	0,6915	0,173
81/82	6 / m	0,275	0,2675	0,0075

Tab. 2: Einzelergebnisse der Hautoberflächenlipidmengen und Alters- bzw. Geschlechtsangaben der ein- und zweieiigen Zwillinge.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	0,2285	0,039	17,07	1/2	0,6585	0,125	18,98
13/14	0,2960	0,002	0,68	5/6	1,1895	0,509	42,79
15/16	0,6470	0,038	5,87	9/10	1,3265	0,495	37,32
21/22	1,3530	0,014	1,03	11/12	3,0920	3,218	104,07
23/24	0,4980	0,070	14,06	17/18	0,4260	0,248	58,22
29/30	0,4255	0,123	28,91	19/20	0,4805	0,369	76,80
31/32	0,6460	0,114	17,65	25/26	0,2780	0,190	68,35
39/40	1,2895	0,239	18,53	27/28	0,7140	0,090	12,61
43/44	0,4730	0,127	26,85	33/34	0,4615	0,037	8,02
47/48	0,6515	0,239	36,68	35/36	0,4460	0,350	78,48
53/54	0,4505	0,165	36,63	37/38	1,2470	1,054	84,52
55/56	0,3420	0,057	16,67	41/42	1,3768	1,110	80,59
57/58	0,4388	0,039	8,77	45/46	0,7510	0,100	13,32
71/72	0,5483	0,467	85,09	49/50	1,1278	0,079	6,96
				59/60	1,0190	1,340	131,50
				61/62	0,4580	0,194	42,36
				63/64	1,2695	1,512	119,10
				65/66	0,2804	0,020	6,96
				69/70	0,3800	0,267	70,26
				75/76	1,2008	1,006	83,74
				77/78	1,2885	0,403	31,28
				79/80	0,6050	1,173	28,60
				81/82	0,2713	0,008	2,76

Tab. 3: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für die Gesamtlipidmenge.

A. Eineiige Zwillinge

Pat. Nr.	Cholesterin 1.Zw.	2.Zw.	Diff.	Fr.Fettsäuren 1.Zw.	2.Zw.	Diff.	Triglyzeride 1.Zw.	2.Zw.	Diff.	Wachsester 1.Zw.	2.Zw.	Diff.	Squalen 1.Zw.	2.Zw.	Diff.
3/4	22,11	23,59	1,48	12,56	14,71	2,15	38,57	39,16	0,59	12,13	11,78	0,35	12,16	10,75	1,41
13/14	28,01	23,31	4,70	4,87	6,44	1,57	37,03	42,93	5,90	14,85	12,68	2,17	14,27	14,50	0,23
15/16	17,38	15,28	2,10	10,53	8,89	1,64	49,10	46,03	3,07	12,00	15,30	3,30	12,03	11,31	0,72
21/22	8,27	8,02	0,25	14,17	16,05	1,88	43,08	44,94	1,86	21,53	22,91	1,38	10,91	9,76	1,15
23/24	14,36	20,17	5,81	10,92	11,24	0,32	44,14	42,04	2,10	18,39	16,88	1,51	12,14	9,62	2,52
29/30	9,62	14,32	4,70	18,36	11,96	0,60	40,39	39,14	1,25	22,11	20,67	1,44	8,79	6,37	2,42
31/32	12,82	12,50	0,32	16,80	18,07	1,27	39,39	39,64	0,25	19,61	18,33	1,28	11,29	11,43	0,14
39/40	5,36	7,02	1,66	18,90	17,13	1,77	42,53	38,52	4,01	21,68	22,50	0,82	11,60	14,45	2,85
43/44	12,97	8,30	4,67	7,95	15,43	7,48	46,94	43,73	3,21	17,07	18,28	1,21	12,04	16,33	4,29
47/48	15,65	13,61	2,04	9,62	7,56	2,06	48,19	45,14	3,05	17,48	18,96	1,48	9,56	12,11	2,55
53/54	15,70	17,70	2,00	13,30	12,30	1,00	40,6	43,0	1,4	20,8	19,1	1,7	9,1	8,4	0,7
55/56	19,3	22,7	3,4	13,1	18,0	4,9	41,8	35,7	6,1	12,8	13,5	0,7	10,2	10,8	0,6
57/58	16,9	16,1	0,8	12,5	13,8	1,3	44,2	42,8	1,4	15,9	15,7	0,2	10,2	11,2	1,0
71/72	20,2	22,8	2,6	18,4	15,3	3,1	32,7	30,1	2,6	15,9	12,2	3,7	11,5	19,5	8,0

B. Zweieiige Zwillinge

1/2	11,64	16,75	5,11	7,43	9,97	2,54	45,24	41,12	4,12	19,3	18,54	0,76	16,38	13,61	2,77
5/6	13,54	21,28	7,74	9,28	13,57	4,29	45,67	41,62	4,05	18,68	14,35	4,33	12,81	9,16	3,65
9/10	11,95	9,22	2,73	14,53	21,93	7,40	44,06	37,45	6,61	17,6	16,84	0,76	11,79	14,52	2,73
11/12	14,4	12,92	1,48	20,77	17,77	3,00	31,3	39,83	8,53	18,2	19,53	1,33	15,1	9,91	5,19
17/18	24,2	23.08	1,12	13,58	7,65	5,93	39,79	38,47	1,32	9,33	17,86	8,53	13,06	12,9	0,16

19/20	13,77	16,14	2,37	5,57	9,28	3,71	55,88	49,59	6,29	15,55	16,52	0,97	9,2	8,42	0,78
25/26	16,9	29,79	12,89	13,51	10,71	2,8	36,48	33,99	2,49	23,75	15,3	8,45	9,32	10,17	0,85
27/28	13,01	15,29	2,28	15,13	9,05	6,08	41,55	44,6	3,05	14,69	19,61	4,92	15,55	11,42	4,13
33/34	17,92	23,4	5,48	9,28	15,15	5,87	41,93	20,4	21,53	17,18	21,13	3,95	13,65	19,87	6,22
35/36	27,9	18,65	9,25	14,24	10,42	3,82	34,22	40,79	6,57	11,29	13,84	2,55	12,32	16,26	3,94
37/38	13,14	10,26	2,88	7,92	8,48	0,56	44,7	48,1	3,4	19,26	20,98	1,72	14,95	12,16	2,79
41/42	14,88	8,21	6,67	13,53	19,47	5,94	44,41	41,13	3,28	18,98	19,36	0,38	8,17	11,53	3,36
45/46	13,41	15,62	2,21	13,46	6,6	6,86	37,91	46,72	8,81	21,1	20,36	0,74	14,08	10,65	3,43
49/50	15,8	20,0	4,2	24,7	19,5	5,2	32,5	30,9	1,6	18,7	16,5	2,2	8,0	12,8	4,8
59/60	22,8	13,2	9,6	12,2	10,3	1,9	41,7	43,3	1,6	14,8	24,9	10,1	8,1	7,8	0,3
61/62	27,0	24,7	2,3	18,6	16,9	1,7	34,2	36,3	2,1	12,4	10,6	1,8	7,4	11,1	3,7
63/64	11,8	10,4	1,4	10,7	12,5	1,8	42 5	40,1	2,4	19,4	18,5	0,9	15,3	18,2	2,9
65/66	23,4	22,7	0,7	12,2	13,9	1,7	34,2	32,1	2,1	13,5	13,4	0,1	16,4	17,5	1,1
69/70	23,2	22,9	0,3	15,6	16,1	0,5	32,2	32,3	0,1	12,9	18,6	5,7	14,4	9,7	4,7
75/76	14,4	6,2	8,2	11,2	11,8	0,6	45,1	51,3	6,2	18,3	16,3	2,0	10,6	14,0	3,4
77/78	13,2	9,3	3,9	13,8	12,2	1,6	39,9	47,9	8,0	18,4	19,3	0,9	14,3	11,0	3,3
79/80	20,5	22,5	2,0	17,0	12,7	4,3	39,3	34,0	5,3	12,0	21,0	9,0	10,9	9,4	1,5
81/82	13,3	25,9	12,6	9,5	15,7	6,2	35,4	34,4	1,0	23,7	9,2	14,5	17,8	14,4	3,4

Tab. 4: Einzelergebnisse und Differenzen der 5 dünnschichtchromatographisch ermittelten prozentualen Fraktionsanteile der ein- bzw. zweieiigen Zwillinge.
Alters- und Geschlechtsangaben siehe Tab. 1.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	22,845	1,48	6,5	1/2	14,195	5,11	36,0
13/14	25,660	4,70	18,3	5/6	17,410	7,74	44,4
15/16	16,330	2,10	12,9	9/10	10,585	2,73	25,8
21/22	8,145	0,25	3,07	11/12	13,660	1,48	10,8
23/24	17,265	5,81	33,7	17/18	23,640	1,12	4,7
29/30	12,220	4,70	38,46	19/20	14,995	2,37	15,8
31/32	12,660	0,32	2,5	25/26	23,345	12,89	55,2
39/40	6,190	1,66	26,8	27/28	14,150	2,28	16,1
43/44	10,635	4,67	43,9	33/34	20,660	5,48	26,5
47/48	14,630	2,04	13,9	35/36	23,300	9,25	39,7
53/54	16,700	2,00	12,0	37/38	11,700	2,88	24,6
55/56	21,000	3,40	16,1	41/42	11,545	6,67	57,8
57/58	16,500	0,80	4,8	45/46	14,515	2,21	15,2
71/72	21,500	2,60	12,1	49/50	17,900	4,20	23,5
				59/60	18,000	9,60	53,3
				61/62	25,850	2,30	8,9
				63/64	11,100	1,40	12,6
				65/66	23,050	0,70	3,04
				69/70	23,050	0,30	1,3
				75/76	10,300	8,20	79,6
				77/78	11,250	3,90	34,7
				79/80	21,500	2,00	9,3
				81/82	19,600	12,60	64,2

Tab. 5: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für Cholesterin.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	13,64	2,15	15,76	1/2	8,70	2,54	29,20
13/14	5,66	1,57	27,74	5/6	11,43	4,29	37,53
15/16	9,71	1,64	16,89	9/10	18,23	7,40	40,59
21/22	15,11	1,88	12,44	11/12	19,27	3,03	15,57
23/24	11,08	0,32	2,89	17/18	10,62	5,93	55,84
29/30	18,66	0,60	3,22	19/20	7,43	3,71	49,93
31/32	17,44	1,27	7,30	25/26	12,11	2,80	23,12
39/40	18,02	1,77	9,82	27/28	12,09	6,08	50,29
43/44	11,69	7,48	63,98	33/34	12,22	5,87	48,04
47/48	8,59	2,06	23,98	35/36	12,33	3,82	30,98
53/54	12,80	1,00	7,81	37/38	8,20	0,56	6,83
55/56	15,55	4,90	31,51	41/42	16,50	5,94	36,00
57/58	13,15	1,30	9,89	45/46	10,03	6,86	68,39
71/72	16,85	3,10	18,39	49/50	22,10	5,20	23,53
				59/60	11,25	1,90	16,89
				61/62	17,75	1,70	9,58
				63/64	11,60	1,80	15,52
				65/66	13,05	1,70	13,03
				69/70	15,85	0,50	3,15
				75/76	11,50	0,60	5,22
				77/78	13,00	1,60	12,31
				79/80	14,85	4,30	28,96
				81/82	12,60	6,20	49,21

Tab. 6: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für freie Fettsäuren.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	38,8625	0,59	1,52	1/2	43,1775	4,12	9,54
13/14	39,9800	5,90	14,76	5/6	43,6425	4,05	9,28
15/16	47,5650	3,07	6,45	9/10	40,7550	6,61	16,22
21/22	44,0100	1,86	4,22	11/12	35,5650	8,53	23,98
23/24	43,0900	2,10	4,87	17/18	39,1300	1,32	3,37
29/30	39,7650	1,25	3,14	19/20	52,7350	6,29	11,93
31/32	39,5150	0,25	0,63	25/26	35,2350	2,49	7,07
39/40	40,5250	4,01	9,89	27/28	43,0750	3,05	7,08
43/44	45,3350	3,21	7,08	33/34	31,1650	21,53	69,08
47/48	46,6650	3,05	6,54	35/36	37,5050	6,57	17,52
53/54	41,8000	1,40	3,35	37/38	46,4000	3,40	7,33
55/56	38,7500	6,10	15,74	41/42	42,7700	3,28	7,67
57/58	43,5000	1,40	3,22	45/46	42,3150	8,81	20,82
71/72	31,4000	2,60	8,28	49/50	31,7000	1,60	5,05
				59/60	42,5000	1,60	3,76
				61/62	35,2500	2,10	5,96
				63/64	41,3000	2,40	5,81
				65/66	33,1500	2,10	6,33
				69/70	32,2500	0,10	0,31
				75/76	48,2000	6,20	12,86
				77/78	43,9000	8,00	18,22
				79/80	36,6500	5,30	14,46
				81/82	34,9000	1,00	2,86

Tab. 7: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für Triglyceride.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	11,955	0,35	2,93	1/2	18,915	0,76	4,02
13/14	13,765	2,17	15,76	5/6	16,515	4,33	26,22
15/16	13,650	3,30	24,18	9/10	17,220	0,76	4,41
21/22	22,720	1,38	6,07	11/12	18,865	1,33	7,05
23/24	17,635	1,51	8,56	17/18	13,595	8,53	62,74
29/30	21,390	1,44	6,73	19/20	16,035	0,97	6,05
31/32	18,970	1,28	6,75	25/26	19,525	8,45	43,28
39/40	22,090	0,82	3,71	27/28	17,150	4,92	28,69
43/44	17,675	1,21	6,85	33/34	19,155	3,95	20,62
47/48	18,220	1,48	8,12	35/36	12,565	2,55	20,29
53/54	19,950	1,70	8,52	37/38	20,120	1,72	8,55
55/56	13,150	0,70	5,32	41/42	19,170	0,38	1,98
57/58	15,800	0,20	1,27	45/46	20,730	0,74	3,57
71/72	14,050	3,70	26,33	49/50	17,600	2,20	12,50
				59/60	19,850	10,10	50,88
				61/62	11,500	1,80	15,65
				63/64	18,950	0,90	4,75
				65/66	13,450	0,10	0,74
				69/70	15,750	5,70	36,19
				75/76	17,300	2,00	11,56
				77/78	18,850	0,90	4,77
				79/80	16,500	9,00	54,54
				81/82	16,450	14,50	88,15

Tab. 8: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für Wachsester.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	11,460	1,41	12,30	1/2	14,985	2,77	18,49
13/14	14,385	0,23	1,60	5/6	10,985	3,645	33,18
15/16	11,670	0,72	6,17	9/10	13,155	2,73	20,75
21/22	10,335	1,15	11,13	11/12	12,505	5,19	41,50
23/24	10,880	2,52	23,16	17/18	12,980	0,16	1,23
29/30	7,580	2,42	31,93	19/20	8,810	0,78	8,85
31/32	11,360	0,14	1,23	25/26	9,745	0,85	8,72
39/40	13,025	2,85	21,88	27/28	13,485	4,13	30,63
43/44	14,185	4,29	30,24	33/34	16,760	6,22	37,11
47/48	10,835	2,55	23,53	35/36	14,290	3,94	27,57
53/54	8,750	0,70	8,00	37/38	13,555	2,79	20,58
55/56	10,500	0,60	5,71	41/42	9,850	3,36	34,11
57/58	10,700	1,00	9,35	45/46	12,365	3,43	27,74
71/72	15,100	8,00	52,98	49/50	10,400	4,80	46,15
				59/60	7,950	0,30	3,77
				61/62	9,250	3,70	40,00
				63/64	16,750	2,90	17,31
				65/66	16,950	1,10	6,49
				69/70	12,050	4,70	39,00
				75/76	12,300	3,40	27,64
				77/78	12,650	3,30	26,09
				79/80	10,150	1,50	14,78
				81/82	16,100	3,40	21,12

Tab. 9: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für Squalen.

A. Eineiige Zwillinge

Pat. Nr.	Phenol-H_2SO_4 (µg/10 cm^2)			Reduktionsmethode (µg/10cm^2)			Ninhydrinmethode (µg/10cm^2)		
	1.Zw.	2.Zw.	Diff.	1.Zw.	2.Zw.	Diff.	1.Zw.	2.Zw.	Diff.
3/4	8,22	8,25	0,03	1,95	2,03	0,08	121,54	188,00	66,46
13/14	5,73	6,71	0,98	2,29	1,77	0,52	236,09	171,38	64,71
15/16	5,35	12,72	7,37	3,08	5,59	2,51	268,88	432,83	163,95
21/22	4,26	4,26	0,00	2,41	1,98	0,43	107,11	77,38	29,73
23/24	3,33	5,84	2,51	1,11	2,52	1,41	56,84	163,51	106,67
29/30	12,29	6,31	5,98	2,52	1,05	1,47	118,92	56,84	62,08
31/32	4,64	4,86	0,22	1,11	1,18	0,07	89,19	85,25	3,94
39/40	12,72	6,17	6,55	1,38	1,05	0,33	102,30	75,20	27,10
43/44	6,22	7,29	1,07	1,97	1,84	0,13	146,46	76,51	69,95
47/48	5,73	6,96	1,23	1,16	1,14	0,02	67,77	62,96	4,81
53/54	4,26	2,73	1,53	1,57	0,87	0,70	48,09	38,47	9,62
55/56	6,55	5,30	1,25	0,63	0,22	0,41	49,84	41,53	8,31
57/58	12,29	11,41	0,88	5,01	4,37	0,64	207,23	225,16	17,93
71/72	7,92	9,01	1,09	2,61	3,01	0,40	280,68	214,23	66,45

B. Zweieiige Zwillinge

1/2	6,96	22,39	15,43	1,27	4,98	3,71	97,06	368,56	271,50
5/6	10,24	10,22	0,02	3,93	2,16	1,77	437,20	170,51	266,69
9/10	2,73	4,26	1,53	1,64	2,35	0,71	171,38	157,39	13,99
11/12	13,59	2,13	11,46	3,28	1,28	2,00	255,76	145,15	110,61
17/18	14,30	12,56	1,74	3,85	1,64	2,21	242,65	94,00	148,65
19/20	10,32	11,63	1,31	3,04	3,24	0,20	118,04	155,21	37,17
25/26	5,13	4,86	0,27	0,61	0,35	0,26	34,98	27,11	7,87
27/28	6,66	10,30	3,64	2,08	3,24	1,16	104,05	240,46	136,41
33/34	16,93	7,64	9,29	1,64	1,30	0,34	75,20	63,39	11,81
35/36	7,21	8,22	1,01	1,74	2,12	0,38	107,23	152,58	45,35
37/38	13,98	12,72	1,26	2,57	2,16	0,41	179,25	244,83	65,58
41/42	7,86	11,47	3,61	1,31	2,24	0,93	144,28	155,64	11,36
45/46	6,66	12,89	6,23	0,57	2,23	1,66	28,42	177,50	149,08
49/50	2,73	6,17	3,44	1,40	1,92	0,52	77,38	132,03	54,65
51/52	5,46	9,50	4,04	1,08	1,64	0,56	73,45	122,85	49,40
59/60	8,46	3,93	4,53	7,05	1,57	5,48	233,90	90,94	142,96
61/62	12,56	14,96	2,40	1,48	2,88	1,40	113,23	220,79	107,56
63/64	21,29	17,61	3,68	4,78	4,28	0,50	240,46	181,44	59,02
65/66	9,86	13,32	3,46	1,56	2,35	0,79	54,65	54,65	0,00
67/68	9,87	6.91	2,96	2,06	1,49	0,57	146,46	41,53	104,93
69/70	6,96	6,93	0,03	0,68	0,80	0,12	42,85	19,67	23,18
75/76	11,74	14,20	2,46	2,29	2,97	0,68	21,86	32,79	10,93
77/78	9,86	9,86	0,00	2,23	2,06	0,17	109,30	97,06	12,24
79/80	14,47	10,92	3,55	2,10	1,47	0,63	48,97	62,08	13,11
81/82	24,68	38,49	13,81	4,28	9,66	5,38	47,65	92,24	44,59

Tab. 10: Einzelergebnisse der quantitativen Bestimmung der Wasserlöslichen Substanzen bei den ein- bzw. zweieiigen Zwillingen.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	8,235	0,03	0,36	1/2	14,675	15,43	105,14
13/14	6,220	0,98	15,76	5/6	10,230	0,02	0,20
15/16	9,035	7,37	81,57	9/10	3,495	1,53	43,78
21/22	4,260	0,00	0,00	11/12	7,860	11,46	145,80
23/24	4,585	2,51	54,74	17/18	13,430	1,74	12,96
29/30	9,300	5,98	64,30	19/20	10,975	1,31	11,94
31/32	4,750	0,22	4,63	25/26	4,995	0,27	5,41
39/40	9,445	6,55	69,35	27/28	8,480	3,64	42,98
43/44	6,755	1,07	15,84	33/34	12,285	9,29	75,62
47/48	6,345	1,23	19,39	35/36	7,715	1,01	13,09
53/54	3,495	1,53	43,78	37/38	13,350	1,26	9,44
55/56	5,925	1,25	21,10	41/42	9,665	3,61	37,35
57/58	11,850	0,88	7,43	45/46	9,775	6,23	63,73
71/72	8,465	1,09	12,88	49/50	4,450	3,44	77,30
				51/52	7,480	4,04	54,01
				59/60	6,195	4,53	73,12
				61/62	13,760	2,40	17,44
				63/64	19,450	3,68	18,92
				65/66	11,590	3,46	29,85
				67/68	8,390	2,96	35,28
				69/70	6,945	0,03	0,43
				75/76	12,970	2,46	18,97
				77/78	9,860	0,00	0,00
				79/80	12,695	3,55	27,96
				81/82	31,585	13,81	43,72

Tab. 11: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für Phenol H_2SO_4.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	1,990	0,08	4,02	1/2	3,125	3,71	118,72
13/14	2,030	0,52	25,62	5/6	3,045	1,77	58,13
15/16	4,335	2,51	57,90	9/10	1,995	0,71	35,59
21/22	2,195	0,43	19,59	11/12	2,280	2,00	87,72
23/24	1,815	1,41	77,69	17/18	2,745	2,21	80,51
29/30	1,785	1,47	82,35	19/20	3,140	0,20	6,37
31/32	1,145	0,07	6,11	25/26	0,480	0,26	54,17
39/40	1,215	0,33	27,16	27/28	2,660	1,16	43,61
43/44	1,905	0,13	6,82	33/34	1,470	0,34	23,13
47/48	1,150	0,02	1,74	35/36	1,930	0,38	19,69
53/54	1,220	0,70	57,38	37/38	2,365	0,41	17,34
55/56	0,425	0,41	96,47	41/42	1,775	0,93	52,39
57/58	4,690	0,64	13,65	45/46	1,400	1,66	118,57
71/72	2,810	0,40	14,23	49/50	1,660	0,52	31,33
				51/52	1,360	0,56	41,18
				59/60	4,310	5,48	127,15
				61/62	2,180	1,40	64,22
				63/64	4,530	0,50	11,04
				65/66	1,955	0,79	40,41
				67/68	1,775	0,57	32,11
				69/70	0,740	0,12	16,22
				75/76	2,630	0,68	25,86
				77/78	2,145	0,17	7,93
				79/80	1,785	0,63	35,29
				81/82	6,970	5,38	77,19

Tab. 12: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für die Reduktionsmethode.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	154,770	66,46	42,94	1/2	232,810	271,50	116,62
13/14	203,735	64,71	31,76	5/6	303,855	266,69	87,77
15/16	350,855	163,95	46,73	9/10	164,385	13,99	8,51
21/22	92,245	29,73	32,23	11/12	200,455	110,61	55,18
23/24	110,175	106,67	96,82	17/18	168,325	148,65	88,31
29/30	87,880	62,08	70,64	19/20	136,625	37,17	27,21
31/32	87,220	3,94	4,52	25/26	31,045	7,87	25,35
39/40	88,750	27,10	30,54	27/28	172,255	136,41	79,19
43/44	111,485	69,95	62,74	33/34	69,295	11,81	17,04
47/48	65,365	4,81	7,36	35/36	129,905	45,35	34,91
53/54	43,280	9,62	22,23	37/38	212,040	65,58	30,93
55/56	45,685	8,31	18,19	51/52	149,960	11,36	7,58
57/58	216,195	17,93	8,29	45/46	102,960	149,08	144,79
71/72	247,455	66,45	26,85	49/50	104,705	54,65	52,19
				51/52	98,150	49,40	50,33
				59/60	162,420	142,96	88,02
				61/62	167,010	107,58	64,42
				63/64	210,950	59,02	27,98
				65/66	54,650	0,00	0,00
				67/68	93,955	104,93	111,63
				69/70	31,260	23,18	74,15
				75/76	27,325	10,93	40,00
				77/78	103,180	12,24	11,86
				79/80	55,525	13,11	23,61
				81/82	69,945	44,59	63,75

Tab. 13: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für Ninhydrin.

A. Eineiige Zwillinge

Pat. Nr.	Erster Zwilling 1.positive 10 Min.	20 Min.	30 Min.	Negative Reaktion	Zweiter Zwilling 1.positive 10 Min.	20 Min.	30 Min.	Negative Reaktion	Unterschied
3/4	+						+		ja
13/14				+				+	nein
15/16		+				+			nein
21/22				+				+	nein
23/24				+				+	nein
29/30				+				+	nein
31/32			+				+		nein
39/40				+				+	nein
43/44				+				+	nein
47/48	+					+			ja
53/54			+				+		nein
55/56				+				+	nein
57/58			+				+		nein
71/72				+				+	nein

B. Zweieiige Zwillinge

1/2				+				+	nein
5/6	+					+			nein
9/10		+						+	ja
11/12				+				+	nein
17/18			+				+		nein
19/20				+			+		ja
25/26			+				+		nein
27/28		+						+	ja
33/34				+		+			nein
35/36	+					+			ja
37/38				+				+	nein
41/42				+				+	nein
45/46		+				+			ja
49/50		+						+	ja
51/52				+		+			ja
59/60			+					+	ja
61/62				+				+	nein
63/64	+					+			ja
65/66			+				+		nein
67/68				+		+			ja
69/70				+				+	nein
75/76			+				+		nein
77/78		+				+			ja
79/80		+				+			ja
81/82			+				+		nein

Tab. 14: Einzelergebnisse der Alkaliresistenzbestimmung bei den ein- bzw. zweieiigen Zwillingen.

A. Eineiige Zwillinge

Pat.Nr.	1.Zwilling	2.Zwilling	Differenz
3/4	19,34	19,36	0,02
13/14	120,40	25,36	95,04
15/16	11,02	151,62	140,60
21/22	41,90	65,72	23,82
23/24	71,62	48,02	23,60
29/30	165,62	165,64	0,02
31/32	75,86	35,28	40,58
39/40	34,44	46,76	12,32
43/44	48,88	38,74	10,14
47/48	87,54	98,32	10,78
53/54	33,50	42,12	8,62
55/56	41,20	42,90	1,70
57/58	45,48	32,04	13,44
71/72	152,26	203,86	51,60

B. Zweieiige Zwillinge

1/2	12,48	25,10	12,62
5/6	22,44	33,36	10,92
9/10	29,36	33,50	4,14
11/12	43,00	17,99	25,01
17/18	11,54	36,36	24,82
19/20	47,70	50,38	2,68
25/26	38,58	41,28	2,70
27/28	67,06	35,12	31,94
33/34	36,04	108,08	72,04
35/36	103,46	65,82	37,64
37/38	28,98	34,84	5,86
41/42	11,42	18,56	7,14
45/46	43,36	24,46	18,90
49/50	50,04	24,66	25,38
51/52	54,54	25,36	29,18
59/60	13,46	20,20	6,74
61/62	61,30	24,60	36,70
63/64	59,92	33,92	26,00
65/66	158,50	103,24	55,26
67/68	205,54	202,72	2,82
69/70	142,86	106,84	36,02
75/76	239,88	182,64	57,24
79/80	49,62	70,18	20,56
81/82	57,24	93,06	35,82

Tab. 15: Ergebnisse (Mittelwerte) der Alkalineutralisationszeiten bei 5maligem Hintereinanderauftragen einer 1/80n NaOH-Lösung bei den ein- bzw. zweieiigen Zwillingen (Werte in sec.).

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	19,35	0,02	0,10	1/2	18,79	12,62	67,16
13/14	72,88	95,04	130,41	5/6	27,90	10,92	39,14
15/16	81,32	140,60	172,90	9/10	31,43	4,14	13,17
21/22	53,81	23,82	44,27	11/12	30,495	25,01	82,01
23/24	59,82	23,60	39,45	17/18	23,95	24,82	103,63
29/30	165,63	0,02	0,01	19/20	49,04	2,68	5,46
31/32	55,57	40,58	73,03	25/26	39,93	2,70	6,76
39/40	40,60	12,32	30,34	27/28	51,09	31,94	62,52
43/44	43,81	10,14	23,15	33/34	72,06	72,04	99,97
47/48	92,95	10,78	11,60	35/36	84,64	37,04	44,47
53/54	37,81	8,62	22,81	37/38	31,91	5,86	18,36
55/56	42,05	1,70	4,04	41/42	14,99	7,14	47,63
57/58	38,76	13,44	34,67	45/46	33,91	18,90	55,74
71/72	178,06	51,60	28,98	49/50	37,35	25,38	67,95
				51/52	39,95	29,18	73,04
				59/60	16,83	6,74	40,05
				61/62	42,95	36,70	85,45
				63/64	46,92	26,00	55,41
				65/66	130,87	55,26	42,23
				67/68	204,13	2,82	1,38
				69/70	124,85	36,02	28,85
				75/76	211,26	57,24	27,09
				79/80	59,90	20,56	34,32
				81/82	75,15	35,82	47,66

Tab. 16: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingspärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Differenz zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für die Alkalineutralisationszeit.

A. Eineiige Zwillinge (n=14)

Pat.Nr.	Tropfengröße (mm^2) 1.Zw.	2.Zw.	Diff.
3/4	110	146	36
13/14	30	43	13
15/16	40	39	1
21/22	127	90	37
23/24	71	46	25
29/30	104	64	40
31/32	80	48	32
39/40	56	64	8
43/44	66	79	13
47/48	43	57	14
53/54	73	80	7
55/56	56	88	32
57/58	102	105	3
71/72	69	39	30

B. Zweieiige Zwillinge (n=23)

1/2	87	136	49
5/6	127	35	92
9/10	35	73	38
11/12	95	147	52
17/18	79	56	23
19/20	103	86	17
25/26	49	81	32
27/28	50	59	9
33/34	66	142	76
35/36	59	74	15
37/38	58	158	100
41/42	39	65	26
45/46	143	87	56
49/50	77	62	15
51/52	87	101	14
59/60	64	48	16
63/64	86	118	32
65/66	85	74	11
69/70	68	50	18
75/76	109	93	16
77/78	62	94	32
79/80	129	121	8
81/82	71	169	98

Tab. 17: Einzelergebnisse der Wasserspreitung auf der Haut (Methylenblautropfen) bei den ein- und zweieiigen Zwillingen.

Eineiige Zwillinge				Zweieiige Zwillinge			
Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%	Pat.Nr.	MW	Diff.	Diff.%
3/4	128,0	36	28,13	1/2	111,5	49	43,95
13/14	36,5	13	35,62	5/6	81,0	92	113,58
15/16	39,5	1	2,53	9/10	54,0	38	70,37
21/22	108,5	37	34,10	11/12	121,0	52	42,98
23/24	58,5	25	42,74	17/18	67,5	23	34,07
29/30	84,0	40	47,62	19/20	94,5	17	17,99
31/32	64,0	32	50,00	25/26	65,0	32	49,23
39/40	60,0	8	13,33	27/28	54,5	9	16,51
43/44	72,5	13	17,93	33/34	104,0	76	73,08
47/48	50,0	14	28,00	35/36	66,5	15	22,56
53/54	76,5	7	9,15	37/38	108,0	100	92,59
55/56	72,0	32	44,44	41/42	52,0	26	50,00
57/58	103,5	3	2,90	45/46	115,0	46	40,00
71/72	54,0	30	55,56	49/50	69,5	15	21,58
				51/52	94,0	14	14,89
				59/60	56,0	16	28,57
				63/64	102,0	32	31,37
				65/66	79,5	11	13,84
				69/70	59,0	18	30,51
				75/76	101,0	16	15,84
				77/78	78,0	32	41,03
				79/80	125,0	8	6,40
				81/82	120,0	98	81,67

Tab. 18: Mittelwerte (MW) der beiden Ergebnisse der einzelnen Zwillingepärchen, die Differenz (Diff.) der beiden jeweiligen Einzelergebnisse und das Verhältnis von Diff. zu Mittelwert in Prozent (Diff.%) für die Wasserspreitung.

B. Auswertung der Einzelergebnisse

Hautoberflächenlipidmenge

GLOOR et al. (17) zeigen, daß die Hautoberflächenlipidmengen, die dünnschichtchromatographischen Fraktionen der Hautoberflächenlipide, die Alkalineutralisationszeit und die Wasserlöslichen Substanzen in der Altersstufe von 8 bis 12 Jahren bei weiblichen Probanden im Gegensatz zu männlichen Probanden der gleichen Altersgruppe größer waren. Dies steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen von COTTERILL et al. (7). Dieser Unterschied ist wahrscheinlich auf den früheren Eintritt der Pubertät beim weiblichen Geschlecht zurückzuführen. Diese Annahme liegt vor allem auch deshalb nahe, weil im Erwachsenenalter bei der Frau keine wesentlichen Unterschiede zum Mann mehr festgestellt werden konnten. Da in dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge die weiblichen Zwillinge zahlenmäßig überworgen, während weibliche und männliche Zwillinge im Kollektiv der eineiigen Zwillinge gleich häufig vorkamen, entspricht es den Erwartungen, daß wir in unserem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge durchschnittlich höhere Werte fanden als in unserem Kollektiv der eineiigen Zwillinge. Zur Vermeidung eines systematischen Fehlers war es deshalb notwendig, das Verhältnis zwischen den absoluten Meßwertdifferenzen und den durchschnittlichen absoluten Meßwerten für jedes Zwillingspaar zu bewerten.

In Tabelle 19 ist die Verteilung der relativen Meßwertdifferenzen, ausgedrückt in Prozent der durchschnittlichen absoluten Meßwerte dargestellt. Aus der Verteilung läßt sich erkennen, daß sich das Kollektiv der eineiigen Zwillinge vom Kollektiv der zweieiigen Zwillinge deutlich unterscheidet. Die Diskordanz zwischen den beiden Zwillingen war bei den eineiigen Zwillingen im Mittel erheblich kleiner als bei den zweieiigen Zwillingen. Dies ließ sich auch statistisch auf einem Signifikanzniveau von 2% belegen. Ein meßbarer Einfluß genetischer Faktoren auf die Hautoberflächenlipidmenge kann somit als gesichert angesehen werden. Den Verteilungen kann weiter entnommen werden, daß der Einfluß genetischer Faktoren auf die Meßwerte für die Hautoberflächenlipidmenge quantitativ erheblich

sein muß. Dieses Ergebnis ist von großer Bedeutung, da der Hautoberflächenlipidmenge eine Schlüsselfunktion für das Aussehen der Haut zukommt.

	Lipidmenge (μg/16 cm^2)		
	n	M	s
EZ	2x14	0,592	0,340
ZZ	2x23	0,880	0,770

Tab. 19: Durchschnittliche Hautoberflächenlipidmenge (M) und deren Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

Dünnschichtchromatographische Analyse der Hautoberflächenlipidmenge

Cholesterin, freies

Der Tabelle 20, in der die Verteilung der relativen Meßwertdifferenzen, ausgedrückt in Prozent der absoluten Meßwerte, dargestellt ist, ist zu entnehmen, daß der prozentuale Anteil an freiem Cholesterin bei den eineiigen Zwillingen geringer ist als bei den zweieiigen Zwillingen. Die Diskordanz bei den beiden Zwillingen war bei den eineiigen Zwillingen geringer als bei den zweieiigen Zwillingen. Statistisch ließ sich dies auf einem Signifikanzniveau von 10% belegen.

	Freies Cholesterin		
	n	M	s
EZ	2x14	15,860	5,748
ZZ	2x23	17,184	5,845

Tab. 20: Durchschnittlicher prozentualer Anteil des freien Cholesterins (M), dessen Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

Freie Fettsäuren

Wie Tabelle 21 zeigt, liegt der prozentuale Anteil der freien Fettsäuren bei den eineiigen Zwillingen durchschnittlich höher als bei den zweieiigen Zwillingen. Die Diskordanz bei den beiden Zwillingen war bei den eineiigen Zwillingen deutlich kleiner als bei den zweieiigen Zwillingen, was sich statistisch auf einem Signifikanzniveau von 5% belegen ließ.

	Freie Fettsäuren		
	n	M	s
EZ	2x14	13,424	4,026
ZZ	2x23	13,160	4,209

Tab. 21: Durchschnittlicher prozentualer Anteil der Freien Fettsäuren (M) und deren Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

Triglyceride

Tabelle 22 zeigt, daß der durchschnittliche prozentuale Anteil an Triglyceriden bei den eineiigen Zwillingen höher lag als bei den zweieiigen Zwillingen. Die Diskordanz bei den beiden Zwillingen war bei den eineiigen Zwillingen deutlich kleiner als bei den zweieiigen Zwillingen. Statistisch ließ sich das auf einem Signifikanzniveau von 5% belegen.

	Triglyceride		
	n	M	s
EZ	2x14	41,480	4,362
ZZ	2x23	39,710	6,456

Tab. 22: Durchschnittlicher prozentualer Anteil der Triglyceride (M) und deren Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

Wachsester

Aus Tabelle 23 ist zu ersehen, daß die prozentualen Anteile an Wachsester bei den eineiigen und zweieiigen Zwillingen gleich waren. Die Diskordanz bei den beiden Zwillingen war bei den eineiigen Zwillingen kleiner als bei den zweieiigen Zwillingen. Dies ließ sich statistisch auf einem Signifikanzniveau von 10% belegen.

	Wachsester		
	n	M	s
EZ	2x14	17,180	3,551
ZZ	2x23	17,200	3,701

Tab. 23: Durchschnittlicher prozentualer Anteil an Wachsester (M) und dessen Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

Squalen

Tabelle 24 zeigt, daß der durchschnittliche prozentuale Anteil an Squalen bei den eineiigen Zwillingen geringer war als bei den zweieiigen Zwillingen. Die Diskordanz bei den beiden Zwillingen war bei den eineiigen Zwillingen kleiner als bei den zweieiigen Zwillingen. Dies ließ sich statistisch auf einem Signifikanzniveau von 10% belegen.

	Squalen		
	n	M	s
EZ	2x14	11,510	2,580
ZZ	2x23	12,520	3,134

Tab. 24: Durchschnittlicher prozentualer Anteil des Squalen (M) und dessen Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

Alkalineutralisationszeit

Aus Tabelle 25 geht hervor, daß die absoluten Meßwerte für die Alkalineutralisationszeit bei den eineiigen Zwillingen größer waren als bei den zweieiigen Zwillingen. Allerdings war dieser Unterschied nicht signifikant.

	Alkalineutralisationszeit (sec)		
	n	M	s
EZ	2x14	69,85	53,02
ZZ	2x24	62,93	55,38

Tab. 25: Durchschnittliche Alkalineutralisationszeiten (M) und deren Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

GLOOR et al. (17) stellten fest, daß in dem Lebensalter, in dem sich unsere Versuchspersonen befanden, die weiblichen Versuchspersonen durchschnittlich geringere Werte als die männlichen Versuchspersonen aufwiesen. Da der Anteil weiblicher Versuchspersonen in unserem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge größer war als im Kollektiv der eineiigen Zwillinge, ist es verständlich, daß die absoluten Meßwerte im Kollektiv der zweieiigen Zwillinge kleiner waren als im Kollektiv der eineiigen Zwillinge. Zur Vermeidung eines systematischen Fehlers war es deshalb notwendig, das Verhältnis zwischen den absoluten Meßwertdifferenzen und den durchschnittlichen absoluten Meßwerten zu bewerten. Eine Darstellung der Verteilung der relativen Meßwertdifferenzen, ausgedrückt in Prozent der durchschnittlichen absoluten Meßwerte findet sich in Abbildung 23. Aus der Verteilung läßt sich ohne weiteres erkennen, daß sich das Kollektiv der eineiigen Zwillinge vom Kollektiv der zweieiigen Zwillinge deutlich unterscheidet. Es läßt sich auf einem Signifikanzniveau von 2,5% zeigen, daß die Diskordanz bei den eineiigen Zwillingen geringer ist als bei den zweieiigen Zwillingen. Deshalb kann ein meßbarer Einfluß genetischer Faktoren auf die Alkalineutralisationszeit als bewiesen angesehen werden. Ebenfalls ist der Abbildung deutlich zu entnehmen, daß der Einfluß

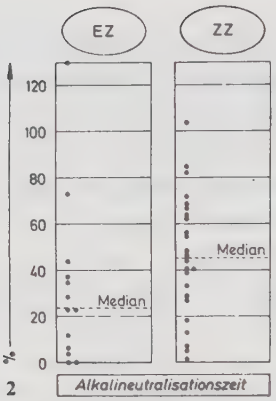


Abb. 23
Verteilung der relativen Meßwertdifferenzen für die Alkalineutralisationszeit bei den eineiigen Zwilligen (EZ) und den zweieiigen Zwillingen (ZZ). Die Meßwertdifferenzen sind dabei in Prozenten der absoluten durchschnittlichen Meßwerte angegeben.

genetischer Faktoren auf diese Bestimmung quantitativ erheblich sein muß. Klinisch ist die Alkalineutralisationszeit ein wichtiger Meßwert, da sie die Fähigkeit der Hautoberfläche charakterisiert, erhebliche Vergrößerungen des pH-Wertes auf der Hautoberfläche durch Alkalieinwirkung auszugleichen.

Alkaliresistenz

Bei der Alkaliresistenz wurde eine andere Auswertungsmethode angewendet. Dabei wurde beurteilt, ob die Befunde bei den Zwillingen identisch waren oder nicht. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 26. Diese Tabelle stellt gleichzeitig die Vierfeldertafel dar, die den statistischen Berechnungen zugrundegelegt wurde. Aus der Tabelle geht hervor, daß die Konkordanz zwischen Zwillingen bei den eineiigen Zwillingen wesentlich häufiger war als bei den zweieiigen.Zwilligen. Statistisch ließ sich dieser Unterschied auf einem Signifikanzniveau von 2,5% sichern. Ein Einfluß genetischer Faktoren auf die Alkaliresistenz der Haut kann somit als gesichert angesehen werden.

Betrachtet man Fälle, bei denen sich in mehr als einem der drei Versuchsfelder eine eindeutige unterschiedliche Reaktion fand, als ausgeprägt diskordant, so konnte eine solche ausgeprägte Diskordanz bei sechs zweieiigen Zwillingspaaren und bei keinem der eineiigen Zwillingspaare festgestellt werden. Aus dieser

Tatsache ist ebenso wie aus Tabelle 26 zu ersehen, daß der Einfluß genetischer Faktoren auf die Alkaliresistenz nicht nur meßbar, sondern auch quantitativ sehr erheblich sein muß. Da die Alkaliresistenz der Haut ein Maß für die Schutzfunktion der Haut ist, sind diese Ergebnisse ebenfalls von großer Bedeutung.

	Alkaliresistenz		
	konkordant	diskordant	Summe
EZ	13	2	15
ZZ	13	13	26

Tab. 26: Anzahl der eineiigen (EZ) bzw. der zweieiigen Zwillingspaare (ZZ), die sich bezüglich der Alkaliresistenz konkordant bzw. diskordant verhielten.

Benetzbarkeit der Haut (Spreitung)

In Tabelle 27 sind die Meßwertdifferenzen in Prozenten der absoluten durchschnittlichen Meßwerte angegeben. Daraus ist zu entnehmen, daß die Tropfengröße durchschnittlich bei den eineiigen Zwillingen kleiner war als bei den zweieiigen Zwillingen. Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant.

	Benetzbarkeit der Haut (Spreitung)		
	n	M	s
EZ	2x14	71,964	28,792
ZZ	2x23	86,022	33,819

Tab. 27: Durchschnittliche Benetzbarkeit der Haut (M) und deren Standardabweichungen (s) bei dem Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ).

Sogenannte Wasserlösliche:
Phenol-H_2SO_4-, Reduktions- und Ninhydrin-Methode

Wie aus Tabelle 28 hervorgeht, waren die Meßwertdifferenzen, die in Prozenten der absoluten durchschnittlichen Meßwerte angegeben sind, bei der Phenol-H_2SO_4-Methode erheblich, bei der Reduktions-Methode geringfügig größer und bei der Ninhydrin-Methode geringfügig kleiner beim Kollektiv der eineiigen Zwillinge als beim Kollektiv der zweieiigen Zwillinge. Diese Unterschiede waren jedoch bei keiner der drei angegebenen Methoden signifikant.

	Phenol-H_2SO_4-Methode		
	n	M	s
EZ	2x14	5,048	2,888
ZZ	2x23	10,892	6,291
	Reduktions-Methode		
	n	M	s
EZ	2x14	2,051	1,266
ZZ	2x25	2,418	1,647
	Ninhydrin-Methode		
	n	M	s
EZ	2x14	136,078	93,356
ZZ	2x25	130,100	88,244

Tab. 28: Durchschnittliche prozentuale Meßwertdifferenzen (M) und deren Standardabweichungen (s) beim Kollektiv der eineiigen Zwillinge (EZ) und dem Kollektiv der zweieiigen Zwillinge (ZZ) bei den Bestimmungen nach der Phenol-H_2SO_4-, der Reduktions- und der Ninhydrin-Methode.

IV. Diskussion

In der Literatur finden sich bis heute keine Hinweise auf die Bedeutung, die Erbfaktoren für die funktionelle Eigenschaft der Haut haben.

In unserer Arbeit untersuchten wir, inwieweit funktionelle Eigenschaften der Haut genetisch reguliert werden. Da es fragwürdig ist, ob der Einfluß bei den Eigenschaften der Haut so groß ist, daß er für die Meßwerte von erheblicher Bedeutung ist, stellt sich die Möglichkeit der Zwillingsuntersuchungen in den Vordergrund.

In grundlegenden Untersuchungen haben bereits SIEMENS (54) und VON VERSCHUER (67) und später NISHIDA (41) und NIERMANN (40) die Aussagekraft der Zwillingsmethode bestätigt. Umweltfaktoren konnten das Ergebnis insofern nur relativ wenig beeinflussen, da ausschließlich die Unterschiede der Ergebnisse zwischen den beiden jeweiligen Zwillingen bewertet wurden und zusammengehörige Zwillinge immer zur gleichen Zeit und unter gleichen Bedingungen untersucht wurden. Methodisch ist dies als wesentlicher Vorteil zu betrachten. In einer früheren Publikation zeigten GLOOR et al. (17), daß in der Altersstufe von 8 bis 12 Jahren, in der auch unsere Zwillinge lagen, die Ergebnisse bei männlichen und weiblichen Versuchspersonen stark differieren. Dieser Unterschied ist wahrscheinlich auf den früheren Eintritt der Pubertät beim weiblichen Geschlecht zurückzuführen.

Bei den zahlreichen Untersuchungen hat sich besonders bezüglich der Hautoberflächenlipidmenge, der Alkalineutralisationszeit und der Alkaliresistenz ein eindeutiger Einfluß genetischer Faktoren herausgestellt. Diese drei Parameter sind gleichzeitig diejenigen, die für die Klinik von besonderer Bedeutung sind. Obwohl bei den durch die Dünnschichtchromatographie aufgeteilten Fraktionen (Cholesterin, Freie Fettsäuren, Triglyceride, Wachsester und Squalen) keine eindeutige Signifikanz nachweisbar war, kann auch hier ein Einfluß genetischer Faktoren angenommen werden, da Lipidmenge und ihre Zusammensetzung miteinander korrelieren. Die Hautoberflächenlipide sind ein Gemisch aus Lipiden der Epidermis und der im Corium liegenden

Talgdrüsen (12,25,26). Freie Cholesterine werden nahezu ausschließlich von den epidermalen Lipiden gestellt. Triglyceride und Freie Fettsäuren entstammen sowohl dem Stoffwechsel der Talgdrüsen als auch dem der Epidermis. Squalene und Wachsester sind überwiegend auf den Stoffwechsel der Talgdrüsen zurückzuführen. Bei der Alkalineutralisationszeitbestimmung wird in erster Linie die Pufferkapazität des Stratum corneum erfaßt (13). Beim Alkali-Resistenztest hingegen werden die Pufferkräfte des Stratum corneum durch die angebotene OH-Ionenmenge überrannt (58).

Während mit der Alkalineutralisationszeitbestimmung vor allem die Pufferkapazität des Stratum corneum erfaßt wird, läßt die Alkali-Resistenzbestimmung Rückschlüsse auf die Barrierefunktion des Stratum corneum zu (61).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben gezeigt, daß genetische Faktoren diese Parameter stark beeinflussen, was auch statistisch nachweisbar war.

Vorliegende Untersuchungen zeigen weiter, daß die Meßwerte sowohl für die Benetzbarkeit der Haut (Spreitung), die mit dem Gehalt der Hautoberflächenlipide an freien Fettsäuren korreliert, als auch für die sogenannten Wasserlöslichen keinen signifikanten genetischen Einfluß aufweisen.

Allerdings läßt sich sowohl bei der Benetzbarkeit der Haut als auch bei den Wasserlöslichen der Einfluß genetischer Faktoren erkennen.

V. Zusammenfassung

Es wird über biochemische und physiologische Untersuchungen an 15 eineiigen und 26 zweieiigen Zwillingspaaren berichtet. Allerdings waren in einigen Fällen nicht alle Untersuchungen voll verwertbar. Bewertet wurden die Meßwertdifferenzen der Ergebnisse beider Zwillinge. Sie wurden zu den durchschnittlichen Absolutwerten in ein Verhältnis gesetzt.

Gravimetrisch und dünnschichtchromatographisch konnte gezeigt werden, daß die Diskordanz bei den Hautoberflächenlipidmengen und den einzelnen Lipidfraktionen bei den eineiigen Zwillingen signifikant kleiner waren als bei den zweieiigen. Zwillingen. Dasselbe gilt für die Alkalineutralisationszeit und die Alkaliresistenz der Haut.

Weiter zeigten die vorliegenden Untersuchungen, daß eine meßbare Beeinflussung der Meßwerte für alle diese Parameter vorliegt und daß diese Beeinflussung auch quantitativ erheblich ins Gewicht fällt. Die Diskordanz zwischen eineiigen Zwillingen und zweieiigen Zwillingen war sowohl bei der Wasserspreitung als auch bei den sogenannten Wasserlöslichen nicht signifikant, doch läßt sich auch hier die Tendenz einer genetischen Beeinflussung der Meßwerte erkennen.

VI. Literaturverzeichnis

1. AEBI, H.
Einführung in die praktische Biochemie
Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt/Main, 1965

2. ARUTJUNOV, W.J., W.A. ODINOKOWA und N.A. USHWIEWA
Der Gehalt der menschlichen Haut an Cholesterin und anderen Lipoiden in verschiedenen Altersstufen
Hautarzt 21, 472-74, 1970

3. BURCKHARDT, W.
Funktionsprüfung der Haut
Dermatologie und Venerologie von H.A.GOTTRON und W.SCHÖNFELD, Vol. 1/1, 194-196
G.Thieme Verlag, Stuttgart, 1961

4. BURCKHARDT, W.
Praktische und theoretische Bedeutung der Alkalineutralisations- und Alkaliresistenzproben
Arch. klin. exp. derm. 219, 600-602, 1963

5. BURTON, R.M.
The determination of glyzerol and dihydroxyacetone
Methods of Enzymology by S.P. COLOWICK and N.O. KAPLAN
Vol. III, 246-249
Academic Press New York, 1957

6. CARRIÉ, C.
Untersuchung über die chemischen Substanzen auf der Haut; 1. Mitteilung: Methode zur Bestimmung chemischer Substanzen auf der Haut.
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 173, 604-606, 1936

7. COTTERIL, J.A., W.J. CUNLIFFE, B. WILLIAMSON and L.BULUSU
Age and sex variation in skin surface lipid composition and sebum excretion rate with time
Brit. J. Derm. 87, 333-340, 1972

8. DUBOIS, M., K.A. GILLES, J.K. HAMILTON, P.E. REBERS and F.SMITH
The phenol-sulfuric-acid-reaction for carbohydrates
Anal. Chem. 28, 350-356, 1956

9. GEIGY, J.R. Pharma-AG (Hrsg.)
Wissenschaftliche Tabellen
7.Auflage, Basel, 1968

10. GENT, C.M. van
Separation and microdetermination of lipids by thinlayer-chromatography followed by densitometry
Z. anal. Chem. 236, 344-350, 1968

11. GLOOR, M., U. SCHULZ, G. WIELAND und I. WIEGAND
Untersuchungen über einen Zusammenhang zwischen Menge und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide. 1. Mitteilung
Fortschr. Med. 90, 325-327, 1972

12. GLOOR, M., M. KIONKE, R. STRACK und H.C. FRIEDERICH
Untersuchungen über einen Zusammenhang zwischen Menge und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide. 2. Mitteilung
Fortschr. Med. 90, 1271-1274 und 1278, 1972

13. GLOOR, M., R. STRACK und I. WIEGAND
Über den Einfluß der Hautoberflächenlipide auf Alkaliresistenz und Alkalineutralisationsfähigkeit der Haut
Fette-Seifen-Anstrichmittel 74, 173-176, 1972

14. GLOOR, M.
Les acides gras lebres dans les lipides cutanés superficiels
Bull. Soc. franç. Derm. Syph. 80, 562-565, 1973

15. GLOOR, M., H. OSCHMANN und H.C. FRIEDERICH
Über den Einfluß endogener und exogener Faktoren auf die Hautoberflächenlipidmenge
Z. Haut-Geschl. Kr. 48, 413-418, 1973

16. GLOOR, M., P. FRANZ und H.C. FRIEDERICH
Untersuchungen über die Physiologie der Talgdrüsen und über den Einfluß der Hautoberflächenlipide auf die Benetzbarkeit der Haut
Arch. Derm. Forsch. 248, 79-88, 1973

17. GLOOR, M., M. KIONKE und H.C. FRIEDERICH
Biochemical and physiological parameters on skin surface of healthy test persons
Arch. Derm. Forsch. 252, 317-330, 1975

18. GLOOR, M., V. MARCKARDT und H.C. FRIEDERICH
Biochemical and physiological particularities on the skin surface of diabetics
Arch. Derm. Forsch. 253, 185-194, 1975

19. GLOOR, M., H.G. SCHNEIDER und H.C. FRIEDERICH
Biochemische Untersuchungen zur Alkalineutralisationszeit-Bestimmung
Derm. Mschr. 162, 29-34, 1976

20. GLOOR, M., H.J. WEIGEL und H.C. FRIEDERICH
Predisposing factors on the surface of the skin in persons with Impetigo contagiosa
Arch. Derm.Forsch. 254, 95-101, 1975

21. GLOOR, M., A. GEILHOF und H.C. FRIEDERICH
Arch. Derm. Forsch. 257, 203-211, 1975

22. GLOOR, M., D. KÜMPEL, G. RONNEBERGER und H.C. FRIEDERICH
Predisposing factors on the surface of the skin in persons with pytiriasis versicolor
Arch. Derm. Forsch. 254, 281-286, 1975

23. GLOOR, M., SCHNEIDER, H.C. FRIEDERICH
Biochemische Untersuchungen zur Interpretation der Alkali-neutralisationszeitbestimmung
Derm. Mschr. 162, 29-34, 1976

24. GRAUMANN, U.
Über Menge und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide bei Akne vulgaris und deren Beeinflußbarkeit durch Tetracycline
Inaugural-Dissertation Marburg/Lahn 1972

25. GRENE, R.S., D.T. DOWNING, P.-E. POCHI and J.S. STRAUSS
Anatomical variation in the amount and composition of human skin surface lipid
J. invest. Derm. 54, 240-247, 1970

26. GRIESEMER, R.D. and R.W. THOMASE
Lipogenesis in human skin: III. Variation in human skin
J. invest. Derm. 41, 235-238, 1963

27. HERRMANN, F. und P.H. PROSE
Studies on the ether soluble substances on the human skin
I. Quantity and replacement sum
J. invest. Derm. 16, 217-230, 1951

28. HONSIG, Chr.
Vergleichende Untersuchungen über Lipidgehalt und Regenerationszeit an der Innenseite von Hand und Vorderarm unter Berücksichtigung des Spreiteffekts
Inauguraldissertation München 1967

29. JACOBI, O.
Die Inhaltsstoffe des normalen Stratum corneum und Callus menschlicher Haut
I. Wasser, Hauttalg, reduzierende Substanzen, Pentosen,

Desoxiribose, Glucosamin
Arch. klin. exp. Derm. 230, 183-194, 1967

30. JENSEN, A.R.
IQs of identical twins reared apart
Behav. genet. 1, 133-148, 1970

31. JOSEPHS, H., M. GLOOR und H.C. FRIEDERICH
Über den Einfluß der Lipidsammelmethode auf den Nachweis von Paraffinen in den Hautoberflächenlipiden
Derm. Mschr.

32. KIRK, E.
Quantitative determinations of the skin lipid secretion in middle aged and old individuals
J. Gerontol. 3, 251-266, 1948

33. KLEINE-NATROP, H.E.
Topographie der Teststelle, Alkalineutralisationsprobe und Hauttyp
Arch. klin. exp. Derm. 219, 631-632, 1963

34. LINCKE, H.
Beiträge zur Chemie des Hautoberflächenfettes
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 194, 436-449, 1952

35. MARCHIONINI, A.
Untersuchungen über die Wasserstoffionen-Konzentration der Haut
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 158, 290-333, 1929

36. MARCHIONINI, A.
Hautkrankheiten und Stoffwechsel
Med. Welt 11, 1197-1202, 1937

37. MIKLASZEWSKA, M. und A. NOWAK
Cholesterol content in lipid mantle of the skin and its relation to cholesterol level in blood serum
Przegl. Derm. 52, 257-263, 1965

38. MIMURA, G.
Study of twins with hypertension
Singapure med. J. 14, 278-281, 1973

39. MOORE, S. und H.W. STEIN
The modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds
J. biol. Chem. 211, 907-913, 1955

40. NIERMANN, H.
Zwillingspathologie
Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York: Springer 1964

41. NISHIDA, H.
Genetics of skin diseases
Tokio: Verlag Kanehara 1973

42. ORCZYKOWSKA SWIATKOWSKAZ
The differentiation of body height and weight in twin
Mati Prace Anthropol. 76, 207-226, 1968

43. OSBOREN, R.H., V. DE GEORGE, F.V., J.A.L. MATHERS
The variability of blood pressure basal and causal measurements in adult twins
Amer. Heart J. 66, 176-183, 1963

44. PARK, H.T. und M.J. JOHNSON
Colorimetric analysis of sugars: Ferricyanid method
J. biol. Chem. 181, 149-151, 1949

45. PRITCHARD, J.E., L.D. EDWARDS and J.E. CHRISTIEN
A study of the surface lipids of skin
J. Amer. Pharm. Ass. Sc. Ed. 38, 546-549, 1949

46. SACHS, L.
Angewandte Statistik: Planung, Auswertung, Methoden und Modelle
Springer Verlag Heidelberg-New York, 1973

47. SCHÄFER, H. und H. KUHN-BUSSIUS
Methodik zur quantitativen Bestimmung der menschlichen Talgsekretion
Arch. klin. exp. Derm. 238, 429-435, 1970

48. SCHIRREN, C.G. und Chr. HONSIG
Über die Lipidregenerationszeit im Bereich talgdrüsenfreier Haut
Hautarzt 17, 224-227, 1966

49. SCHNEIDER, W. und H. SCHULEIT
Der Fettmantel der Haut und seine Bedeutung für die Benetzung
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 193, 434-459, 1951

50. SCHNEIDER, W.
Alkalineutralisation und Hauttyp
Arch. klin. exp. Derm. 219, 620-626, 1964

51. SCHNEIDER, W.
Hautkonstitution und Kosmetik
Cosmetologica 19, 231-236, 1970

52. SCHUBERT, H., A. ZIEGLER und R. APEL
Die Alkaliresistenz der Haut bei Jugendlichen und ihre Bewertung
Berufsdermatosen 22, 160-167, 1974

53. SCHWARZ, I.T., F.H. REULING und F. FEINLEIB
Twin heretability story of the corticosteroid response
Trans, Amer. Akad.Ophthalm. Otolaryng. 77, 126-136, 1973

54. SIEMENS, H.W.
Einführung in die allgemeine und spezielle Vererbungspathologie des Menschen
Berlin: Springer 1923

55. SPIER, H.W. und G. PASCHER
Zur analytischen und funktionellen Physiologie der Hautoberfläche
Hautarzt 7, 55-60, 1956

56. SPIER, H.W. und G. PASCHER
Physiologie der Hautoberfläche
Akt. Probl. Derm. 1, 1-46, Karger Verlag Basel-New York 1959

57. SPIER, H.W. und G. PASCHER
Analytische und physiologische Untersuchungen über die wasserlöslichen Inhaltsstoffe der peripheren Hornschicht (Hautoberfläche)
Acta derm. venerol. (Stockholm) Proc. 11th int. Congr. Derm. Stockholm 1957, 1, 14-22, 1960

58. SPIER, H.W. und H.U. BEIERSDORFF
Zur quantitativen Bedeutung der Skleroproteine und der wasserlöslichen Inhaltsstoffe für Alkalineutralisations- und -resistenzproben
Arch. klin. exp. Derm. 219, 613-619, 1964

59. SPIES, J.R.
Colorimetric procedures for amino acids
Methods in Encymology v.S.P. COLOWICK und N.O.KAPLAN
Vol. III, 467-477

60. SPRUIT, D.
Evaluation of skin function by the alkali application technique
Curr.Probl.Derm. 3, 148-163, Karger Verlag Basel-New York 1970

61. SZAKALL, A.
Experimentelle Daten zur Klärung der Funktion der Wasserbarriere der Epidermis des lebenden Menschen
Berufsdermatosen 6, 171-192, 1958

62. SZAKALL, A.
Biologie der Hautoberfläche
Acta derm. venerol. (Stockholm) Proc. 11th int. Congr. Derm. Stockholm 1957, 2, 23-26, 1960

63. TILLING, W.
Zur diagnostischen Brauchbarkeit des Hautzuckertests
Med. Klin. 10, 387-388, 1961

64. TRONNIER, H. und I. JESSEN
Untersuchungen über das Spreitvermögen der menschlichen Haut in Abhängigkeit von konditionellen und konstitutionellen Faktoren
Zschr. Haut-Geschl.-Kr. 43, 143-152,1968

65. URBACH, E. und K. REJTÖ
Beiträge zu einer physiologischen und pathologischen Chemie der Haut. XI. Mitteilung
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 166, 478-490, 1932

66. URBACH, E.
Isolierte cutane Glycohistechie als Ursache chronischer Dermatosen
Med. Klin. 29, 350-360, 1833

67. VERSCHUER, O. v., W.M. KINKELIN, V. ZIPPERLEN
Die vererbungsbiologische Zwillingsforschung. Ihre biologischen Grundlagen. Studien an 102 eineiigen und 45 gleichgeschlechtlichen zweieiigen Zwillings- und an 2 Drillingspaaren
Erg. inn. Med. 31, 35,1927

68. VOGEL, F. und G.G. WENDT
Zwillingsuntersuchung über die Erblichkeit einiger anthropologischer Maße und Konstitutionsindices
Z. menschl. Vererb. u. Konstit. Lehre 33, 425-446, 1956

Lebenslauf

Am 9. August 1947 wurde ich in Backnang, Baden-Württemberg als zweiter von vier Söhnen des Zahnarztes Dr. Walter Kramer und seiner Ehefrau Maria Kramer, geb. Holz, geboren. 1954 wurde ich in Burgstall eingeschult, ab 1958 besuchte ich das Gymnasium in Backnang, wo ich 1967 die Reifeprüfung bestand.

Von 1967 bis 1970 studierte ich an der Philipps-Universität Marburg Naturwissenschaft. Ab 1970 studierte ich an derselben Universität Zahnmedizin, bestand 1971 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1973 die zahnärztliche Vorprüfung und 1976 das Staatsexamen.

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Professoren und Dozenten:

Ahrens
Amon
Aurich
Aziz
Balzer
Bernhard
Bock
Bode
Carstenholz
Dehnicke
Dimroth
Friederich
Gloor
Haberich
Hannis
Hensel
Hering
Heuser
Hort
Ihm
Janke
Karlsson
Kirmse
Köcke
Koransky
Kühnel
Lauer
Mahr
Niemeyer
Nöth
Pantke
Petry
Pfütz
Riecken
Rohen
Rupec
Schienbein
Schiff
Schmidt
Schmitz-Moormann
Schneider
Schnell
Seidel
Siegel
Stuke
Walcher
Wehrmeyer
Wendt

Danksagung

Herrn Professor Dr. H.C. Friederich möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und des Arbeitsplatzes in der Dermatologischen Universitätsklinik Marburg sowie für seine freundliche Unterstützung danken.

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Professor Dr. Max Gloor verpflichtet, der mich bei der Konzeption der Arbeit beraten und mir bei der Durchführung der Versuche und bei der Abfassung der Arbeit mit vielen wertvollen Ratschlägen zur Seite gestanden hat.

Des weiteren danke ich Herrn Professor Dr. U.W. Schnyder für seine Beratung.

Ferner danke ich Herrn Professor Dr. G.G. Wendt vom Humangenetischen Institut der Universität Marburg für die Durchführung der Zwillingsdiagnostik.

Für die technische Beratung, für die Unterstützung im Labor und für das freundliche Arbeitsklima dort bedanke ich mich bei Frau Krippner-Kümpel, Frau Ronneberger und nicht zuletzt bei Herrn Kionke, des weiteren bei Frau Schneider für die Anfertigung der Fotografien.

Schließlich möchte ich mich bei allen Versuchspersonen und deren Eltern bedanken, die sich trotz der beträchtlichen Aufwand an Zeit und Geduld erfordernden Untersuchungen zur Verfügung stellten.

Der DFG bin ich für die finanzielle Unterstützung zu Dankbarkeit verpflichtet.